

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E
BIOTECNOLOGIA**

PAULO CESAR DE SOUZA KIRNEV

**PRODUÇÃO E RECUPERAÇÃO EM ESCALA SEMI PILOTO DE
BIOMASSA MICROALGAL ATRAVÉS DE FLOCULAÇÃO QUÍMICA**

CURITIBA

2016



PAULO CESAR DE SOUZA KIRNEV

**PRODUÇÃO E RECUPERAÇÃO EM ESCALA SEMI PILOTO DE
BIOMASSA MICROALGAL ATRAVÉS DE FLOCULAÇÃO QUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia Área de concentração: Agroindústria e Biocombustíveis, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Luciana Porto de Souza Vandenberghe

CURITIBA

2016

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

- K59p Kirnev, Paulo Cesar de Souza
Produção e recuperação em escala semi piloto de biomassa microalgal através de floculação química / Paulo Cesar de Souza Kirnev – Curitiba, 2016
120f. : il. [algumas color.] ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2016.
- Orientador: Júlio Cesar de Carvalho
Coorientadora: Luciana Porto de Souza Vandenberghe.
Bibliografia: p. 87-96.
Acesso dados abertos BDC/UFPR: <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1429-y>
1. Microalga. 2. Floculação. 3. Biomassa. I. Universidade Federal do Paraná. II. Carvalho, Júlio Cesar de. III. Vandenberghe, Luciana Porto de Souza. IV. Título.

CDD: 660.62

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585

TERMO DE APROVAÇÃO

PAULO CESAR DE SOUZA KIRNEV

"Produção e Recuperação em Escala Semi Piloto de Biomassa Microalgal
Através de Floculação Química"

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho

Orientador – Departamento de Eng^a de Bioprocessos e Biotecnologia, UFPR



Profa. Dra. Luciana Porto de Souza Vandenberghe

co-orientadora – Departamento de Eng^a de Bioprocessos e Biotecnologia,
UFPR



Profa. Dra. Adriane Bianchi Pedroni Medeiros

Departamento de Eng^a de Bioprocessos e Biotecnologia, UFPR



Dra. Valcineide Oliveira de Andrade Tanabe

Pós - Doutoranda do Programa de Pós Graduação de Bioprocessos e
Biotecnologia, UFPR

Curitiba, 24 de Março de 2016.

Dedico esse trabalho, as
pessoas que mais amo, em especial
ao meu Pai e ao meu Amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por pela vida, pela saúde, por colocar em meu caminho pessoas que jamais esquecerei e por dar suporte em minha vida profissional para que me tornasse mestre.

Aos meus verdadeiros amigos, Ana Maria de Oliveira Finco, João Vitor Meza Bravo, Keli Alvin Sobral, Mauricio Fernandes, Aline Kuhn Sbruzzi Pasquali, Márcia Wibrantz, Valesca Weingartner Montibeller, Francieli Goelzer, Loize Bombardelli, Debora Guedes, Erica Kähler, Jessica Fernanda Nunes Savegnago, Manuella Dreher, Liliana Carrillo Cartas, que me deram palavras e aconselhamentos nas horas que mais precisei.

Ao Prof. Júlio Cesar de Carvalho e Prof^a Luciana Porto de Souza Vandenberghe, por suas orientações, que sem elas não seria possível a execução deste trabalho. Ainda pela paciência e aconselhamentos do Prof. Júlio em momentos difíceis.

Aos técnicos de laboratório, Natasha Amaliom e Mitiyo Fukada Miyaoka por sua ajuda em todas as vezes que necessitei. Em especial a Mitiyo, pela amizade, ensinamentos e pelas conversas que foram de grande conforto, muito obrigado.

A Valcineide Tanobe, pelas ajudas com alguns experimentos e ao grupo do Prof^o Rilton A. Freitas (DQ) por possibilitar algumas análises.

A Jéssica Toshie Miyaoka, pelos auxílios no meu trabalho e aguentado as minhas cantorias.

A Liliana Carrillo Cartas, por me auxiliar em vários momentos não só no laboratório, mas fora também.

Ao meu amor, por sua compreensão, carinho e amor....

Meu agradecimento especial aos meus País, Paulo e Zíla Kirnev, por me instruir e me ensinar que tenho que ir atrás dos meus sonhos. Amo muito vocês.

A vida é uma série de quartos.
As pessoas que ficam conosco em
cada um destes quartos vão
compondo a nossa vida.
House – One day, one room

RESUMO

O mercado de microalgas apresenta grande potencial, pois os compostos produzidos são de alto valor agregado e facilmente assimilado pelas indústrias alimentícias (humana e a animal), farmacêutica, química, entre outras. Em 2013 a produção mundial correspondia a 9 mil toneladas anuais de biomassa com valor médio de 30 a 300 €/kg, movimentando cerca de 3,5 a 5 bilhões de euros anuais. Dentre os produtos derivados de microalgas, a proteína se destaca; as microalgas apresentam em média de 35 a 50% de proteína. Assim sua capacidade de redução das extensões produtivas é de 132 a 297 vezes, quando comparada com a principal fonte de proteína, a soja. Outro produto de interesse são os lipídios, cuja concentração depende da espécie e forma de cultivo. As concentrações de microalgas em cultivos são relativamente baixas (da ordem de 5g/L) e a concentração dessa biomassa se torna um desafio tecnológico, adicionando custos ao processo. Outro fator importante a ser observado é a estabilidade microbiológica das culturas, apresentando suscetibilidade a contaminações com outros micro-organismos, como por exemplo, protozoários e até mesmo microalgas ambientais. As microalgas *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80 foram estudadas em escala laboratorial (até 10 L) até a semi piloto (de 70 a 180 L). Um ponto observado foi a relação à resistência a contaminantes. A *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 apresentou baixa resistência a contaminação e verificou-se a presença de contaminantes em 10 dias de cultivo. No entanto, a *Dunaliella salina* SAG 184.80 constatou-se alta resistência a contaminantes, os quais foram observados a partir de 20 dias. Posteriormente, foi estudado a recuperação da biomassa utilizando seis flocculantes, subdivididos em caráter catiônico, aniônico e não iônico. O melhor flocculante apresentou eficiência acima de 99% e com fator de concentração de 14 vezes, nas condições de pH 6 e concentração de 16 mg. L⁻¹, em ambas as escalas testadas.

Palavras-chave: *Neochloris oleoabundans*. *Dunaliella salina*. Flocculação.

ABSTRACT

The microalgae market has great potential, as the compounds produced are of high value and easily assimilated by the pharmaceutical, chemical, and food industry (human and animal), among others. In 2013 world production amounted to 9000 tons of biomass with an average value from 30 to 300 € / kg, moving about 3.5 to 5 billion euros annually. Among its very important products, the protein stands out; microalgae have on average 35 to 50% protein, thus reducing the area of cultivation 132-297, times when compared with the main source of protein, soy. The expansion of the market demands a greater production area. Another important microalgal product is lipids, whose concentration depends on the species and cultivation method. The concentrations of microalgal cultures are relatively low (5g/L), and the concentration of this biomass becomes a technological hurdle, adding cost to the process. Another important factor to consider is the microbiological stability of cultures, showing susceptibility to contamination with other microorganisms, such as protozoa and even environmental microalgae. The microalgae *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 and *Dunaliella salina* SAG 184.80 were investigated on a laboratory scale (up to 70 L) to the semi-pilot (from 70 to 180 L). A point noted was for resistance to contaminants. *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 showed low contamination resistance, and it was observed the presence of contaminants within 10 days of cultivation. However, *Dunaliella salina* SAG 184.80 was found to be more resistant to contaminants, which were observed after 20 days. Subsequently, the recovery of the biomass was studied using six flocculants subdivided into cationic, anionic and nonionic character. The best flocculant presented an efficiency above 99% and with a concentration factor of 14 times under the conditions of pH 6 to a concentration of 16 mg / L in both ranges tested.

Key-words: *Neochloris oleoabundans*. *Dunaliella salina*. Flocculation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 – CULTIVO EM REATOR ABERTO TIPO RACEWAY..... | 30 |
| FIGURA 2 – REATOR TIPO TUBULAR DE SISTEMA FECHADO..... | 32 |
| FIGURA 3 – ESQUEMA DO PROCESSO DE COAGULAÇÃO | 36 |
| FIGURA 4 – ÁCIDO ADÍPICO (À ESQUERDA), POLIQUATERNIUM-33 (À DIREITA)..... | 42 |
| FIGURA 5 – ÁCIDO ADÍPICO..... | 42 |
| FIGURA 6 – ESTRUTURA MOLECULAR DO 2-PROPENAMIDA..... | 44 |
| FIGURA 7 – CÂMARA DE CONTAGEM CELULAR FUCHS-ROSENTHAL | 50 |
| Figura 8 – FLUXOGRAMA DE PROCESSO DO ESCALONAMENTO PARA O CULTIVO DE MICROALGAS..... | 52 |
| Figura 9 – TANQUE UTILIZADO PARA O ESCALONAMENTO..... | 54 |
| FIGURA 10 – CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE N. OLEOABUNDANS EM CULTIVO REALIZADO EM ESTUFA E TANQUE DE 180 L | 55 |
| FIGURA 11 – INÓCULOS DE <i>Dunaliella salina</i> | 57 |
| FIGURA 12 – PARÂMETROS CINÉTICOS DA <i>D. salina</i> | 58 |
| FIGURA 14 – ESQUEMA DO PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO..... | 65 |
| FIGURA 15 – INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FLOCULANTES SOBRE O PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA MICROALGA <i>Dunaliella salina</i> | 67 |
| FIGURA 16 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA ETAPA 1 DE FLOCULAÇÃO PARA <i>Neochloris oleoabundans</i> | 69 |
| FIGURA 17 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA CORRIDA FLOCULAÇÃO 2 PARA <i>Neochloris oleoabundans</i> | 71 |
| Figura 18 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA CORRIDA FLOCULAÇÃO 1 PARA <i>Dunaliella salina</i> | 73 |
| FIGURA 19 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA CORRIDA FLOCULAÇÃO 2 PARA <i>Dunaliella salina</i> | 75 |
| Figura 20 – INFLUÊNCIA DO pH NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA N. oleoabundans..... | 76 |
| Figura 21 – INFLUÊNCIA DO pH NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA N. oleoabundans..... | 77 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 22 – INFLUÊNCIA DO PH NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA <i>D. salina</i> | 78 |
| FIGURA 23 - INVESTIGAÇÃO DO pH PARA <i>D. salina</i> | 78 |
| FIGURA 25 - CURVA DE DOSAGEM DE FLOCULANTE PARA <i>N. oleoabundans</i> | 80 |
| FIGURA 26 - ESQUEMA DO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO EM ESCALA SEMI PILOTO | 81 |
| FIGURA 27 - FLOCULAÇÃO EM ESCALA PILOTO UTILIZANDO O FLOCULANTE ZETAG® 8165. | 83 |
| FIGURA 28 - FLOCULAÇÃO EM ESCALA PILOTO UTILIZANDO O FLOCULANTE ZETAG® 8185. | 85 |
| TABELA 19 — DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8165 PARA <i>N. oleoabundans</i> | 97 |
| FIGURA 29 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8165. | 97 |
| FIGURA 30 – DIAGRAMA DE PARETO (À ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (À DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8185. | 98 |
| FIGURA 31 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 7652. | 99 |
| FIGURA 32 – DIAGRAMA DE PARETO (À ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (À DIREITA) PARA O ZETAG® 4120. | 100 |
| FIGURA 33 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22. | 101 |
| FIGURA 34 – DIAGRAMA DE PARETO (À ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (À DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® 351..... | 102 |
| FIGURA 35 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8165. | 103 |
| FIGURA 36 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8185. | 104 |
| FIGURA 37 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 7652 | 105 |
| FIGURA 38 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 4120. | 106 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 39 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22. . | 107 |
| FIGURA 40 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® 351..... | 108 |
| FIGURA 41 DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8165 para <i>D. salina</i> | 109 |
| FIGURA 42 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8185. | 110 |
| FIGURA 43 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 7652. | 111 |
| FIGURA 44 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 4120. | 112 |
| FIGURA 45 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22. . | 113 |
| FIGURA 46 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® 351..... | 114 |
| FIGURA 47 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8165. | 115 |
| FIGURA 48 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8185. | 116 |
| FIGURA 49 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 7652. | 117 |
| FIGURA 50 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 4120. | 118 |
| FIGURA 51 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22. . | 119 |
| FIGURA 52 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® 351..... | 120 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DE MEIOS PARA O CULTIVO DE <i>D. salina</i> | 26 |
| TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DE MEIOS PARA O CULTIVO DE <i>N. oleoabundans</i> | 27 |
| TABELA 3 - ESTIMATIVA DE CUSTO..... | 32 |
| Tabela 4 - Custos dos processos de recuperação | 35 |
| TABELA 5 - RESUMO DE FLOCULANTES, MICROALGA E EFICIÊNCIAS... | 40 |
| TABELA 6 – COMPOSIÇÃO DO MEIO BRISTOL | 47 |
| TABELA 7 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTIVO BG 11 | 48 |
| TABELA 8 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DUN MODIFICADO | 48 |
| TABELA 9 - NÍVEIS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL | 62 |
| TABELA 10 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO FATORIAL COMPLETO 2 ² | 62 |
| TABELA 11 - NÍVEIS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO FATORIAL COMPLETO 2 ² PARA <i>N. oleoabundans</i> | 63 |
| TABELA 12 - NÍVEIS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO FATORIAL COMPLETO 2 ² PARA <i>D. salina</i> | 63 |
| TABELA 13 - RESUMO DOS EFEITOS DOS TESTES DE FLOCULAÇÃO DE <i>Neochloris oleoabundans</i> - ETAPA 1..... | 68 |
| TABELA 14 - RESUMO DOS TESTES DE FLOCULAÇÃO ETAPA 2 PARA <i>Neochloris oleoabundans</i> | 70 |
| TABELA 15 - RESUMO DOS TESTES DE FLOCULAÇÃO ETAPA 1 PARA <i>Dunaliella salina</i> | 72 |
| TABELA 16 - RESUMO DAS CORRIDAS DO EXPERIMENTO DE FLOCULAÇÃO PRELIMINAR 2 PARA <i>Dunaliella salina</i> | 74 |
| FIGURA 24 – VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO DA <i>D. salina</i> | 79 |
| TABELA 17 BALANÇO DE MASSA DO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO COM O ZETAG® 8165..... | 82 |
| TABELA 18 - BALANÇO DE MASSA DO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO COM O ZETAG® 8185..... | 83 |
| TABELA 20 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG® 8185 PARA <i>N. oleoabundans</i> | 98 |

| | |
|---|-----|
| TABELA 21 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 99 |
| TABELA 22 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 100 |
| TABELA 23 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® LT 22. | 101 |
| TABELA 24 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 102 |
| TABELA 25 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 103 |
| TABELA 26 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 104 |
| TABELA 27 DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 105 |
| TABELA 28 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 106 |
| TABELA 29 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® LT 22 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 107 |
| TABELA 30 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA <i>N. oleoabundans</i> . | 108 |
| TABELA 31 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA <i>D. salina</i> . | 109 |
| TABELA 32 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA <i>D. salina</i> . | 110 |
| TABELA 33 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA <i>D. salina</i> . | 111 |
| TABELA 34 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA <i>D. salina</i> . | 112 |
| TABELA 35 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA <i>D. salina</i> . | 113 |
| TABELA 36 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA <i>D. salina</i> . | 114 |
| TABELA 37 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA <i>D. salina</i> . | 115 |

| | |
|--|-----|
| TABELA 38 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA <i>D. salina</i> | 116 |
| TABELA 39 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA <i>D. salina</i> | 117 |
| TABELA 40 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA <i>D. salina</i> | 118 |
| TABELA 41 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® LT 22 PARA <i>D. salina</i> | 119 |
| TABELA 42 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351. | 120 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 18 |
| 1.1 | OBJETIVOS | 19 |
| 1.1.1 | Objetivo Geral | 19 |
| 1.1.2 | Objetivos Específicos | 19 |
| | CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 20 |
| 1 | MERCADO MUNDIAL DE MICROALGAS | 21 |
| 2 | MICROALGAS | 21 |
| 2.1 | <i>NEOCHLORIS OLEOABUNDANS</i> | 23 |
| 2.2 | <i>DUNALIELLA SALINA</i> | 24 |
| 3 | ASPECTOS GERAIS DO CULTIVO DE MICROALGAS | 25 |
| 3.1 | MEIOS DE CULTIVO (NUTRIENTES) | 25 |
| 3.1.1 | <i>Dunaliella salina</i> | 26 |
| 3.1.2 | <i>Neochloris oleoabundans</i> | 26 |
| 3.2 | SUPRIMENTO DE CO ₂ | 27 |
| 3.3 | DEMANDA/RETIRADA DE O ₂ | 28 |
| 3.4 | AGITAÇÃO | 29 |
| 3.5 | CULTURAS EM SISTEMA ABERTO..... | 29 |
| 3.6 | CULTURAS EM SISTEMA FECHADO | 31 |
| 3.7 | CUSTO DE PRODUÇÃO | 32 |
| 4 | ASPECTOS PRÁTICOS DA RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA EM CULTURAS MICROALGAIS | 33 |
| 4.1 | O PRINCIPAIS MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO DE MICROALGAS | 34 |
| 4.2 | FLOCULAÇÃO | 35 |
| 4.2.1 | Teoria de Agregação | 36 |
| 4.2.2 | Floculantes inorgânicos | 37 |
| 4.2.3 | Floculantes orgânicos..... | 37 |
| 4.3 | FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS..... | 38 |
| 4.3.1 | Auto floculação..... | 41 |
| 4.4 | FLOCULANTES..... | 42 |
| 4.4.1 | Zetag ® 8165 | 42 |
| 4.4.2 | Zetag ® 8185 | 42 |
| 4.4.3 | Zetag ® 7652 | 43 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 4.4.4 | Zetag ® 4120 | 43 |
| 4.4.5 | Magnafloc ® LT 22..... | 43 |
| 4.4.6 | Magnafloc ® 351 | 43 |
| 4.5 | NEFELOMETRIA..... | 44 |
| CAPÍTULO II – CULTIVO EM ESCALA AMPLIADA | | 45 |
| 1 | INTRODUÇÃO | 46 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 47 |
| 2.1 | MEIOS DE CULTIVO..... | 47 |
| 2.1.1 | <i>Neochloris oleoabundans</i> | 47 |
| 2.1.2 | <i>Dunaliella salina</i> | 48 |
| 2.2 | ESTUDOS CINÉTICOS DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL..... | 48 |
| 2.3 | DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS..... | 49 |
| 2.3.1 | Biomassa..... | 49 |
| 2.3.2 | Nefelometria..... | 51 |
| 2.4 | CULTIVO DE BIOMASSA MICROALGAL | 51 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 52 |
| 3.1 | <i>NEOCHLORIS OLEOABUNDANS</i> | 52 |
| 3.2 | <i>DUNALIELLA SALINA</i> | 56 |
| CAPÍTULO III – RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL POR FLOCULAÇÃO | | 60 |
| 1 | INTRODUÇÃO | 61 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 61 |
| 2.1 | AGENTES FLOCULANTES | 61 |
| 2.2 | FLOCULAÇÃO PRELIMINAR | 61 |
| 2.3 | FLOCULAÇÃO – FASE 1 | 62 |
| 2.4 | FLOCULAÇÃO – FASE 2 | 63 |
| 2.5 | CÁLCULO DE EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO..... | 64 |
| 2.6 | ESTUDO DO EFEITO DO PH SOBRE A FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS | 64 |
| 2.7 | DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO | 64 |
| 2.8 | CURVA DE DOSAGEM DE FLOCULANTE | 65 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 66 |
| 3.1 | FLOCULAÇÃO PRELIMINAR | 66 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 3.2 | AVALIAÇÕES DAS CONDIÇÕES DE FLOCULAÇÃO | 68 |
| 3.2.1 | <i>Neochloris oleoabundans</i> | 68 |
| 3.2.2 | <i>Dunaliella salina</i> | 72 |
| 3.3 | ESTUDO DO EFEITO DO PH SOBRE AS MICROALGAS INDUZINDO A AUTOFLOCULAÇÃO | 75 |
| 3.3.1 | <i>Neochloris oleoabundans</i> | 76 |
| 3.3.2 | <i>Dunaliella salina</i> | 77 |
| 3.4 | CURVA DE DOSAGEM DE FLOCULANTE | 80 |
| 3.5 | FLOCULAÇÃO EM ESCALA SEMI PILOTO | 81 |
| | CONCLUSÃO | 86 |
| | REFERÊNCIAS | 87 |
| | APÊNDICE A. NEOCHLORIS OLEOABUNDANS | 97 |
| A.1 | FLOCULAÇÃO 1 – NEOCHLORIS OLEOABUNDANS | 97 |
| A.1.1 | ZETAG ® 8165 | 97 |
| A.1.2 | ZETAG ® 8185 | 98 |
| A.1.3 | ZETAG ® 7652 | 99 |
| A.1.4 | ZETAG ® 4120 | 100 |
| A.1.5 | MAGNAFLOC ® LT 22 | 101 |
| A.1.6 | MAGNAFLOC ® 351 | 102 |
| A.2 | FLOCULAÇÃO 2 – NEOCHLORIS OLEOABUNDANS | 103 |
| A.2.1 | ZETAG ® 8165 | 103 |
| A.2.2 | ZETAG ® 8185 | 104 |
| A.2.3 | ZETAG ® 7652 | 105 |
| A.2.4 | ZETAG ® 4120 | 106 |
| A.2.5 | MAGNAFLOC ® LT 22 | 107 |
| A.2.6 | MAGNAFLOC ® 351 | 108 |
| | APÊNDICE B. DUNALIELLA SALINA | 109 |
| B.1 | FLOCULAÇÃO 1 – DUNALIELLA SALINA | 109 |
| B.1.1 | ZETAG ® 8165 | 109 |
| B.1.2 | ZETAG ® 8185 | 110 |
| B.1.3 | ZETAG ® 7652 | 111 |
| B.1.4 | ZETAG ® 4120 | 112 |
| B.1.5 | MAGNAFLOC ® LT 22 | 113 |
| B.1.6 | MAGNAFLOC ® 351 | 114 |

| | | |
|-------|---------------------------------------|-----|
| B.2 | FLOCULAÇÃO 2 – DUNALIELLA SALINA..... | 115 |
| B.2.1 | ZETAG ® 8165..... | 115 |
| B.2.2 | ZETAG ® 8185..... | 116 |
| B.2.3 | ZETAG ® 7652..... | 117 |
| B.2.4 | ZETAG ® 4120..... | 118 |
| B.2.5 | MAGNAFLOC ® LT 22 | 119 |
| B.2.6 | MAGNAFLOC ® 351..... | 120 |

1 INTRODUÇÃO

A produção de microalgas tem sido foco de intensa pesquisa nas últimas décadas, devido à sua capacidade de converter luz solar em bioprodutos, os quais são utilizados nos mais variados ramos da indústria como a alimentícia, farmacêutica, química, dentre outras. A produção mundial de biomassa microalgal ainda é pequena, correspondendo entre 7 a 9 mil toneladas anuais, e com um valor consideravelmente alto, em média de 30 a 300 €/kg. Há necessidade de estudos de processos econômicos de produção de biomassa microalgal. Um dos problemas enfrentados nessa indústria reside na recuperação da biomassa para que possa ser destinada a processos de purificação, extração entre outros (ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA; MOLINA GRIMA, 2013; ALGAEMAX, 2013; BORGES et al., 2011; BRENNAN; OWENDE, 2010; HEASMAN et al., 2000; VANDAMME et al., 2010, 2015; WAN et al., 2014).

Os processos para recuperação de biomassa microalgal têm como desafios o fato de que as culturas são inerentemente diluídas, e a densidade das células é próxima à da água. Esses fatores dificultam o processo de recuperação, e assim, a biomassa torna-se mais onerosa. A concentração celular afeta os volumes processados na recuperação de biomassa, e para se conseguir quantidade significativa de produto é necessário processar grandes volumes de cultura. Uma etapa de pré-concentração é essencial para a redução dos volumes na recuperação.

Devido às baixas concentrações de biomassa, os processos de recuperação apresentam alta complexidade e custos de operação, como por exemplo, a centrifugação e filtração por membranas. Essas operações chegam a corresponder de 20 a 30 % do custo ou até mesmo ultrapassar os custos de cultivo (GRIMA et al., 2003). A floculação em conjunto com um método físico de separação pode reduzir o consumo energético em até 90% (SALIM; VERMUË; WIJFFELS, 2012; T'LAM et al., 2014; WAN et al., 2014). Assim, a floculação seguida de uma sedimentação/flotação surge uma ferramenta importante para a redução do custo da recuperação. A floculação é um processo de desestabilização da carga da partícula, de modo a produzir flocos e, por conseguinte, o material sedimenta ou flota. Esta desestabilização é promovida pela adição de agentes químicos (MCCABE; SMITH; HARRIOTT, 1993).

Nesta pesquisa a floculação foi realizada com a adição de agentes flocculantes poliméricos, otimizado as condições em relação ao pH e concentração de flocculante. Foram estudados 6 flocculantes, divididos em grupos de caráter catiônico, aniônico e não-iônico. Após o levantamento das condições ótimas em laboratório, foram realizados testes em escala semi piloto, correspondendo a volumes de 40 L.

Para que fosse possível a verificação do processo de floculação e de sedimentação e/ou flotação, foi necessário produzir grandes volumes de culturas. Assim, o processo foi escalonado desde pequenos volumes (10 mL), sendo ampliado progressivamente até 200 L. As escalas foram divididas em laboratorial e semi piloto. A escala laboratorial corresponde a volumes de 10 mL a 70 L e a escala semi piloto correspondendo a volumes acima de 70 até 200L.

Os cultivos durante o escalonamento foram acompanhados determinando a concentração celular, a concentração mássica e a presença de protozoários e microalgas ambientais com contaminantes. De modo geral, o acompanhamento das culturas foi realizado via contagem de células e nefelometria – uma medida indireta justificada pela facilidade de trabalhar em campo e pela robustez do equipamento.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Produzir e recuperar biomassa microalgal usando floculação, observando o comportamento de culturas desde a escala laboratorial até escala semi piloto

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Desenvolver o cultivo em escala laboratorial a fim de produzir biomassa microalgal de *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80.
- b) Cultivar em escala semi piloto os dois gêneros de microalgas maximizando a produção de biomassa.
- c) Otimizar a recuperação de biomassa produzida de microalgas por floculação variando a concentração de flocculante e o pH.

CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 MERCADO MUNDIAL DE MICROALGAS

As microalgas são cultivadas e utilizadas para a produção de alimentos de animais e peixe, fertilizantes orgânicos e extratos de alto valor, tais como ácidos graxos poli-insaturados (*poly unsaturated fatty acids*, PUFA's), os pigmentos naturais, nutracêuticos e antioxidantes: utilizados em produtos cosméticos, produtos farmacêuticos, suplementos alimentares e alimentos funcionais (PULZ; GROSS, 2004; VIGANI et al., 2015). A produção anual de biomassa microalgal é relativamente baixa, de 7.000 a 9.000 toneladas de material seco; porém o preço é elevado, de 30 a 300 €/kg, sendo atrativo e este mercado vem crescendo significativamente (ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA; MOLINA GRIMA, 2013; ALGAEMAX, 2013; BRENNAN; OWENDE, 2010).

O mercado global de biomassa microalgal corresponde de 3,5 a 5 bilhões de euros, com um elevado nível de participação das SME¹. Desse total, o setor de alimentos de saúde responde por € 1,5 bilhões e as aplicações na aquicultura é responsável por € 0,5 milhões. (ALGAEMAX, 2013).

A etapa de colheita demanda grandes quantidade de energia, devido às propriedades das microalgas e sua baixa concentração no meio de cultura (água), o que representa um grande obstáculo para a viabilidade econômica da produção de biodiesel microalgal. A recuperação da biomassa microalgal é comumente realizada através de centrifugas, este sendo o maior responsável pelo acréscimo de valor no processo.(ALGAEMAX, 2013).

2 MICROALGAS

A palavra latina “algas” é utilizada para um conjunto amplo de organismos, que podem ser definidos tanto em termos de morfologia quanto de fisiologia geral (BELLINGER; SIGEE, 2010). As microalgas são organismos fotossintéticos, são como plantas simples, porém, não apresentam raízes, caules ou folhas. De modo geral, são organismos aquáticos, embora possam ser encontrados no solo, em árvores e

¹ SME's - São pequenas e médias empresas que são sediadas na União Europeia ou estabelecidas num país associado ao programa Horizonte 2020 pode agora obter financiamento e apoio da UE a projetos de inovação que irão ajudá-los a crescer e expandir suas atividades para outros países - na Europa e além (EUROPEAN, 2015)

animais, e em relações simbióticas com outros organismos, como por exemplo, os corais e líquens (RICHMOND; HU, 2013).

Essas formas primitivas de plantas apresentam mecanismos fotossintéticos semelhantes aos das plantas superiores, sendo de modo geral, mais eficientes na conversão da energia solar, devido à estrutura celular simples. Outra característica importante das microalgas é a facilidade de crescer em suspensão aquosa, o que proporciona acesso mais eficiente ao dióxido de carbono e outros nutrientes (DOUCHA; STRAKA; LÍVANSKÝ, 2005; GOUVEIA et al., 2009).

As microalgas vêm sendo cultivadas pela humanidade há séculos, principalmente como alimento. No entanto, os métodos de cultivo em massa são sistemáticos para uso potencial na produção de produtos químicos de alto valor que vêm sendo desenvolvidos mais recentemente (ACIÉN FERNÁNDEZ et al., 2001; BURLEW, 1953)

A ideia de produzir microalgas em escala industrial ocorreu pela primeira vez por cientistas alemães, com o objetivo de elaborar fontes baratas de proteína capazes de substituir aquelas de origem animal, que eram difíceis de obter, durante a Segunda Guerra Mundial (CARVALHO; MEIRELES; MALCATA, 2006; RICHMOND; HU, 2013). Nos EUA, a pesquisa sobre a cultura em massa de microalgas começou como um desenvolvimento colateral de estudos fundamentais sobre a fotossíntese. Na tentativa de traduzir as necessidades biológicas da cultura de microalgas em especificações de engenharia, uma planta de cultura em larga escala foi feita no Instituto de Pesquisa de Stanford, em 1948 (CARVALHO; MEIRELES; MALCATA, 2006).

As microalgas são produzidas hoje para o consumo humano e animal, como fonte de alimentos e compostos ativos. As microalgas também são usadas no tratamento de resíduos e intensamente estudadas para a produção de biocombustíveis (ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA; MOLINA GRIMA, 2013). Alternativamente, as microalgas têm sido propostas como fonte de produtos *commodities*. As microalgas apresentam entre 30-50% de proteína bruta (OHSE et al., 2009), o que as tornam fontes com grande potencial para a produção de proteína, necessitando de área produtiva entre 132 a 297 vezes menor, quando comparada à da soja, cultura mais abundantemente produzida com foco nas proteínas (CHISTI, 2007).

Os grandes problemas no cultivo de microalgas são conhecidos, como: a dificuldade de manter as microalgas axênicas (puras) em cultura aberta; as reduzidas

eficiências fotossintéticas devidas ao sombreamento mutuo; a necessidade de um reuso da água e assim a necessidade de recuperação contínua; alto custo de recuperação das células; a necessidade de controlar a temperatura, a incapacidade de controlar a temperatura em sistema aberto e a utilização ineficaz do CO₂ (LEE, 1986), entre outros.

Do ponto de vista econômico, as microalgas podem ser descritas como microrganismos com a capacidade de "colher o sol" e, portanto, transformar a sua energia radiante em produtos valiosos, teoricamente à custa de recursos naturais baratos como CO₂ e H₂O.

2.1 *Neochloris oleoabundans*

Microalgas fotoautotróficas ricas em lipídios, como a *Neochloris oleoabundans* são promissores recursos renováveis para a produção de biodiesel, devido à sua alta produtividade e a não competitividade com alimentos (CHISTI, 2007; GOUVEIA et al., 2009; PRUVOST et al., 2009; SCHENK et al., 2008; SOUSA et al., 2012; WIJFFELS; BARBOSA, 2010).

O uso de lipídios de microalgas como matéria-prima para a produção sustentável de biocombustíveis é um tema para a comunidade científica. Isto está relacionado com o elevado teor de lipídios de algumas espécies e com o fato de que a síntese de lipídios pode ser facilmente modulada pela manipulação das suas condições de cultivo. Além disso, devido à sua elevada eficiência fotossintética, as velocidades de crescimento são maiores em comparação com as plantas superiores. Microalgas ricas em lipídios podem ser consideradas como potencialmente um dos produtores mais eficientes de biocombustível (SANTOS et al., 2012). Nesse contexto, a *Neochloris oleoabundans* está posicionada entre as principais microalgas por poder apresentar 40 a 80% em massa de lipídios totais, com grandes quantidades de ácidos graxos de cadeia saturada com comprimento de 16 a 20 carbonos em suas estruturas (GOUVEIA et al., 2009; LI et al., 2008; MURRAY et al., 2011; PRUVOST et al., 2009).

Na literatura é relatado uma variação de valores de pH do cultivo da microalga *N. oleoabundans* em uma faixa de 5,52 a 10,8 os quais apresentaram valores de 0,97 a 3,2 g/L para os pH ácido-neutro, no entanto para os valores de pH neutro-alkalino 0,1 g/L. Assim pode-se concluir que as concentrações mássicas de biomassa são

obtidas nas faixas ácido-neutra. As condições acima citadas para valores de pH na região alcalina é devido a tentativa de expressar maior produtividade de lipídio, uma vez que, a célula em condições de estresse produz mais lipídio (CHISTI, 2007; GOUVEIA et al., 2009; LI et al., 2008; MURRAY et al., 2011; PRUVOST et al., 2009; SALIM et al., 2011; SANTOS et al., 2012; SCHENK et al., 2008; SOUSA et al., 2012; WIJFFELS; BARBOSA, 2010).

2.2 *Dunaliella salina*

A microalga verde unicelular halofílica flagelada *Dunaliella salina* está entre as melhores fontes biológicas de carotenoides (β -caroteno) e tem sido cultivada comercialmente desde a década de 1980. Esse carotenoide é valioso para a indústria farmacêutica, nutracêutica, a aquicultura, e indústrias de nutrição animal. Mais recentemente, a *D. salina* e outras espécies de *Dunaliella* têm sido propostas como potenciais futuras fontes de biocombustíveis incluindo biodiesel e etanol (HUESEMANN; BENEMANN, 2009; TANG et al., 2011; ZOU et al., 2009).

Em 1905, Teodoresco descreveu formalmente o gênero *Dunaliella* nomeando-o em homenagem a M. F. Dunal e estabelecendo *Dunaliella salina* como a espécie-tipo (TEODORESCO, 1905). Desde então, muitas espécies de *Dunaliella*, a partir de uma vasta gama de habitats marinho aos hipersalinos, foram descrita (BOROWITZKA; SIVA, 2007), mas a *D. salina* extremamente halofílica (às vezes também chamado *D. Bardawil*) continua a ser a espécie industrializada mais importante do gênero *Dunaliella* devido ao seu alto teor de β -caroteno, podendo alcançar 16% do massa seca celular (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2003).

Na natureza, *D. salina* pode ser encontrada na maioria dos lagos salinos e muitos outros corpos d'água hipersalinos ao redor do mundo, desde a Antártica até às regiões desérticas (GÓMEZ; GONZÁLEZ, 2004; TOMINAGA; FUKUI, 1981).

A *D. salina* é uma microalga capaz de produzir carotenoides, como o β -caroteno sob a forma de cis (principalmente na forma 9-cis) e trans-isômeros (BEN-AMOTZ; LERS; AVRON, 1988). As proporções destes isômeros são determinadas pelas condições ambientais, como a irradiação, temperatura e salinidade (BEN-AMOTZ, 1996; GÓMEZ et al., 2003; ORSET; YOUNG, 2000). Algumas das espécies de *Dunaliella* acumulam quantidades de carotenoides suficientes para obter uma coloração avermelhada ou até mesmo alaranjada; por exemplo, em *D. parva* o

principal composto é o β -caroteno; em *D. pseudosalina*, o principal composto responsável pela sua coloração é a cantaxantina. Em algumas linhagens pode ser encontrado α -caroteno, normalmente em condições de estresse, especialmente em baixas temperaturas (GÓMEZ; GONZÁLEZ, 2005; MIL'KO, 1962; ORSET; YOUNG, 1999). A cantaxantina é o principal carotenoide nos aplanósporos da *D. salina* (BOROWITZKA; HUISMAN, 1993), atingindo uma concentração de 1,3% do aplanósporo em massa seca. Além da produção de carotenoides, esta microalga verde unicelular móvel pode acumular lipídios, sendo uma alternativa para a substituição renovável dos combustíveis fósseis (BESSON; GUIRAUD, 2013; MISHRA; MANDOLI; JHA, 2008).

A espécie de alga utilizada para este estudo foi de *Dunaliella salina*, que se desenvolve em uma faixa de pH de 6 a 9 (YING, 2013; ZIMMERMAN et al., 2011). Também foi observado na literatura, que a variação de pH dos cultivos dessa microalga de modo global é de 6 a 12, quando o objetivo é a recuperação via processo de floculação (BESSON; GUIRAUD, 2013; YING, 2013).

3 ASPECTOS GERAIS DO CULTIVO DE MICROALGAS

3.1 MEIOS DE CULTIVO (NUTRIENTES)

A disponibilidade de nutrientes é um fator importante que controla os níveis de produtividade primária de organismos fotossintéticos. Meios de cultivo com diferentes composições são fornecidos à célula como fonte de dióxido de carbono, água e sais minerais em macro e micro quantidades. Os macronutrientes, considerados essenciais para o desenvolvimento da cultura, normalmente são o carbono, nitrogênio, fósforo, hidrogênio, oxigênio, enxofre, cálcio, magnésio, sódio, potássio e cloro. Os micronutrientes são necessários em quantidades traços de micro, nano, e às vezes em picogramas por litro, tais como ferro, boro, manganês, cobre, molibdênio, vanádio, cobalto, níquel, silício e selênio. Em alguns casos, há necessidade de adicionar um agente quelante para diminuir a toxicidade dos metais presentes nos micronutrientes (SUH; LEE, 2003).

3.1.1 *Dunaliella salina*

A microalga *D. salina* é um micro-organismo que suporta concentrações altas de sais, acima de 60 g/L. Na TABELA 1 é possível observar meios descritos por autores na literatura, os quais apresentam diferenças entre composição e teor de íons

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DE MEIOS PARA O CULTIVO DE *D. salina*

| Sais | Meio Hipersalino | SSW | Johnsons modificado | SHAISH | DUN |
|-------------------------------|---|-------------------------------|--|---|-------------|
| | g/L | g/L | g/L | g/L | g/L |
| K ⁺ | 3,99 | - | 0,40 | 0,20 | 0,80 |
| Mg ²⁺ | 2,43 | 0,95 | 0,23 | 0,12 | 3,90 |
| Ca ²⁺ | 0,24 | 0,30 | 0,05 | 0,01 | 0,59 |
| Na ²⁺ | 35,49 | 42,09 | 34,51 | 69,31 | 23,66 |
| Fe | 2,23E-03 | - | 4,82E-04 | 1,12E-04 | - |
| NO ₃ ⁻ | 6,20 | - | 0,61 | 0,31 | 0,15 |
| SO ₄ ⁻ | 9,61 | 1,87 | 0,20 | 0,48 | 5,31 |
| Cl ⁻ | 53,61 | 65,44 | 53,30 | 106,91 | 37,11 |
| PO ₄ ⁻ | 0,19 | - | 0,03 | 0,02 | 0,01 |
| HCO ₃ ⁻ | 1,53 | - | 0,02 | - | - |
| CO ₃ ⁻ | - | - | - | - | - |
| EDTA | - | - | 1,56E-03 | - | - |
| Concentração de Biomassa | g/L Cell/mL | - 0,6 | - | - | - |
| | 1,30E+06 | - | 2,00E+06 | 2,00E+06 | 4,00E+05* |
| Referência | (MELIS; NEIDHARDT; BENEMANN, 1998) | (BESSON; GUIRAUD, 2013) | (BOROWITZKA; BOROWITZKA, 1988; SATHASIVAM; JUNTAWONG; PROGRAM, 2013) | (SHAISH; BEN- AMOTZ; AVRON, 1992) | (SAG, 2008) |

FONTE: O AUTOR, 2016

Nota: (*) valor no presente estudo.

3.1.2 *Neochloris oleoabundans*

Para se saber as necessidades gerais e/ou específicas para o cultivo de *Neochloris oleoabundans*, foi realizado um levantamento bibliográfico contendo meios gerais de (Tabela 2), os quais apresentam também diferença entre composição e quantidade.

TABELA 2 - COMPOSIÇÃO DE MEIOS PARA O CULTIVO DE *N. oleoabundans*.

| Sais | Li | Meio Bristol Modificado (MBM) | Elvira- Antonio | Medium N+ | BG 11 | Santos | BBM modificado |
|-----------------------------------|----------|--|-----------------------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------------------|
| | g/L | g/L | g/L | g/L | g/L | g/L | g/L |
| K ⁺ | 0,15 | 0,53 | 0,09 | 1,32 | 0,02 | - | 0,08 |
| Mg ₂ ⁺ | 0,01 | 0,01 | 1,97E-04 | 3,65E-03 | 0,01 | 3,65E-03 | 0,02 |
| Ca ₂ ⁺ | 0,01 | 0,01 | 1,44E-03 | 3,61E-03 | 0,01 | 4,01E-04 | 0,01 |
| Na ₂ ⁺ | 0,25 | 0,08 | 2,75E-03 | 0,41 | 0,42 | 9,66 | 0,21 |
| Fe | - | - | - | - | 4,54E-03 | 1,64E-03 | - |
| NO ₃ ⁻ | 0,62 | 0,18 | 0,13 | 1,84 | 1,09 | 0,27 | 0,55 |
| SO ₄ ⁻ | 0,06 | 0,58 | 7,80E-04 | 0,11 | 0,03 | 2,16 | 0,09 |
| Cl ⁻ | 0,05 | 0,03 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 14,90 | 0,03 |
| PO ₄ ⁻ | 0,31 | 0,17 | 0,01 | 0,10 | 0,02 | - | 0,17 |
| HCO ₃ ⁻ | - | - | - | 0,61 | - | - | - |
| CO ₃ ⁻ | - | - | - | - | 0,01 | - | - |
| EDTA | - | - | - | - | - | 0,01 | - |
| NH ₄ ⁺ | - | - | - | - | 4,12E-04 | - | - |
| Citrate | - | - | - | - | 4,31E-03 | - | - |
| Produtividade (g/L.dia) | 0,630 | 0,350 | 0,620 | - | 0,960 | - | 16,5 g/m ² dia |
| Concentração de Biomassa (g/L) | 3,200 | 3,500 | - | 1,430 | 1,140 | 1,800 | 6,000 |
| Referência | Li, 2008 | Wang, 2011 | Elvira- Antonio, 2013 | Klok, 2013 | Murray, 2012 | Santos, 2012 | J. Pruvost, 2009 |

FONTE: o autor, 2016.

3.2 SUPRIMENTO DE CO₂

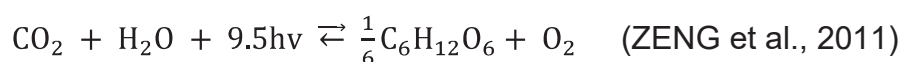
Quase 50% de toda a biomassa de microalgas é formada de carbono, portanto este elemento é essencial para o crescimento celular. Quando cultivadas fotolitotroficamente, as microalgas utilizam fontes de carbono inorgânicas para sintetizar compostos orgânicos. Em ambientes aquosos, carbono inorgânico pode existir em várias formas alternativas químicas, CO₂ (aq), H₂CO₃, HCO₃⁻ e CO₃²⁻, que são inter-conversíveis através de reações cujo equilíbrio depende de temperatura e pH. A possibilidade de que microalgas usem carbono na forma de CO₂ ou nas formas de HCO₃⁻ e CO₃²⁻ não é uma questão crítica, porque as reações para inter-converter CO₂, H₂CO₃, HCO₃⁻ e CO₃²⁻ na forma solúvel são suficientemente rápidas para não

limitar a demanda de CO₂ pelas células (CARVALHO; MEIRELES; MALCATA, 2006; GOLDMAN; DENNETT; CAROL, 1981; RICHMOND; HU, 2013).

O dióxido de carbono e/ou bicarbonato, depois de dissolvidos no meio de cultura, são as fontes de carbono utilizadas para o crescimento fotoautotrófico da célula, assim, geralmente o CO₂ deve ser adicionado a fim de suprir as necessidades da microalga a fim de se obter um crescimento satisfatório. Tipicamente a sua concentração encontra-se acima de 0,7% a 5% em volume (CARVALHO; MEIRELES; MALCATA, 2006; DAVIS et al., 1953; JAMES; AL-KHARS, 1990; LEE; PALSSON, 1994; MIYAMOTO; WABLE; BENEMANN, 1988; SINGH; SHARMA, 2012; SUH; LEE, 2003; TORZILLO et al., 1986; YONGMANITCHAI; WARD, 1992), podendo chegar a 10% adicionados nas correntes de alimentação. Quando o fornecimento de CO₂ é alto, pode apresentar efeito reverso, assim diminuindo a taxa de crescimento específica. As fontes de carbono inorgânico como os bicarbonatos e outros sais similares também são utilizadas, porém deixam o processo mais oneroso (SINGH; SHARMA, 2012; SUH; LEE, 2003)

3.3 DEMANDA/RETIRADA DE O₂

A intensidade da luz é considerada como uma questão fundamental a ser tratada em sistemas de microalgas; no entanto, não é o único fator potencialmente limitante para fotossíntese, cuja reação simplificada é descrita da seguinte forma:



Na verdade, se ocorrer acúmulo de oxigênio (isto é, quando a concentração de oxigênio estiver acima da saturação) a reação acima mencionada, que é reversível, é deslocada para a esquerda, o que diminui a eficiência fotossintética. Em geral, as concentrações de oxigênio, acima da saturação do ar, inibem a fotossíntese nas microalgas (MIRÓN et al., 1999). Além disso, o acúmulo de O₂ no meio de cultura líquido é um dos problemas mais difíceis de ultrapassar, pois pode tornar-se tóxica acima de uma certa concentração. As concentrações de oxigênio dissolvido acima de 35 mg.L⁻¹ são tóxicas para a maioria das microalgas (CARVALHO; MEIRELES; MALCATA, 2006)

3.4 AGITAÇÃO

Após o cumprimento de requisitos de crescimento nutricionais e garantir que os fatores ambientais não sejam limitantes, a agitação torna-se o próximo parâmetro crítico. Uma mistura eficiente deve ser fornecida de forma a produzir uma dispersão uniforme de microalgas no meio de cultura, eliminando assim os gradientes de luz, a concentração de nutrientes (incluindo CO₂) e de temperatura. Finalmente, o efeito de "sombreamento mútuo", ou seja, o movimento celular contínuo das zonas de iluminada/escuro, foi reportado como essencial para garantir alta produtividade de biomassa (CARVALHO; MEIRELES; MALCATA, 2006; GUDIN; CHAUMONT, 1991; LEE; PALSSON, 1994; SUH; LEE, 2003).

3.5 CULTURAS EM SISTEMA ABERTO

Os sistemas abertos podem ser classificados em sistemas naturais (lagos, lagoas, tanques) e sistemas artificiais. Os sistemas mais comuns são as lagoas rasas e os tanques do tipo *raceway*, pois apresentam facilidade na sua construção (UGWU; AOYAGI; UCHIYAMA, 2008)

Sistemas de cultivo ao ar livre compreendem lagoas naturais ou artificiais, tanques *raceway* (FIGURA 1), geralmente operando em profundidades de água de 15 - 30 cm. Eles representam os processos clássicos utilizados para a produção de biomassa microalgais. Embora diferentes tipos de reatores abertos tenham sido postos em operação desde o final dos anos cinquenta por diferentes grupos, os sistemas mais usados incluem grandes lagoas rasas, tanques ou lagos circulares (XU et al., 2009).

FIGURA 1 – CULTIVO EM REATOR ABERTO TIPO RACEWAY.



FONTE: EGARDT et al., (2013); GREENWELL et al., (2009).

Esses sistemas apresentam suscetibilidade à contaminação, uma dificuldade particular de apresentarem monocultura. Ainda podem apresentar baixo crescimento por haver concorrência pelos nutrientes do meio (GUMMERT; MEFFERT; STRATMANN, 1953).

Sistemas abertos têm a vantagem da alta disponibilidade de radiação solar, baixo consumo de energia e de transferência de massa suficiente de baixo custo, mas a desvantagem está relacionada à contaminação fácil e controle limitado das condições de cultivo (ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA; MOLINA GRIMA, 2013)

Os sistemas abertos são a forma mais barata de cultivar microalgas, suas vantagens são a estrutura mais barata e simplificada do que as dos tanques e trincheiras. Quanto maiores os sistemas, maior a capacidade produtiva (SINGH; SHARMA, 2012)

3.6 CULTURAS EM SISTEMA FECHADO

Apesar do sucesso dos sistemas abertos, os futuros avanços nos cultivos em massa de microalgas exigem sistemas fechados como as espécies de microalgas que não crescem em ambientes altamente seletivos. Além disso, muitas novas microalgas e produtos microalgais devem ser cultivados livre de potenciais contaminantes tais como metais e de micro-organismos (BOROWITZKA, 1999).

Os sistemas fechados são definidos como sistemas de cultura de microalgas que não permitem a troca de gases direta e contato entre a cultura e a atmosfera, evitando contaminações (ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA; MOLINA GRIMA, 2013).

As vantagens dos sistemas fechados são: promover controle das variáveis físico-químicas (temperatura, pH, pCO_2 , etc.); aumentar a concentração de biomassa para que haja uma recuperação facilitada; os sistemas são esterilizados efetivamente e há maior facilidade de se manter uma monocultura (MIYAMOTO; WABLE; BENEMANN, 1988; PIRT et al., 1983; SUH; LEE, 2003; TREDICI; MATERASSI, 1992)

Uma desvantagem dos sistemas fechados é que muitas vezes a eficiência de luz é diminuída devido à utilização dos materiais que não são completamente transparentes (materiais plásticos de modo geral, com características translúcidas). Esse fenômeno pode ser ampliado por acúmulo de poeira, água condensada, bioincrustação na superfície interna (CHAUMONT, 1993), custos de material e custos elevados derivados de maior consumo de energia e capacidade de transferência de massa para atingir maior produtividade de biomassa (ACIÉN FERNÁNDEZ; FERNÁNDEZ SEVILLA; MOLINA GRIMA, 2013)

Um exemplo de fotobiorreatores é o tubular (FIGURA 2), sendo um dos mais utilizados para cultivo fechado.

FIGURA 2 – REATOR TIPO TUBULAR DE SISTEMA FECHADO.



FONTE: EGARDT et al., (2013); GREENWELL et al., (2009).

3.7 CUSTO DE PRODUÇÃO

A estimativa de custo para a produção é variável, uma vez que, as condições de cultivo, clima e método de recuperação empregado influenciam de forma direta ou indireta. CHRISTENSON; SIMS (2011), em seu estudo estimou o custo assumindo melhores condições de cultivo, assim, obtendo os valores de US \$ 0,70- \$ 0,97 kg⁻¹. Na TABELA 3 encontra-se valores referentes ao sistema de cultivo e o valor correspondente.

TABELA 3 - ESTIMATIVA DE CUSTO

| Tipo | Método de Produção | Custo (\$/kg) |
|-------------------|--------------------|---------------|
| Custo | Tanque aberto | 5 |
| Custo | Tanque aberto | 3,6 |
| Estimativa | Cultura acoplada | 0,7-0,97 |
| Estimativa | Tanque aberto | 6,93 |
| Estimativa | PBR fechado | 5,81 |
| Estimativa | Tanque aberto | 3,8 |
| Estimativa | PBR fechado | 2,95 |
| Previsão do Custo | Tanque aberto | 1,79 |
| Previsão do Custo | PBR fechado | 0,98 |
| Previsão do Custo | Tanque aberto | 0,6 |
| Previsão do Custo | PBR fechado | 0,47 |

Fonte: adaptado de CHRISTENSON; SIMS, (2011).

Uma das variedades de microalga comumente cultivada é a *Dunaliella salina*, a qual em 2008 apresentava custo de cultivo em sistema abertos por volta de \$2,55 por quilograma de biomassa seca (TAN, 2008).

4 ASPECTOS PRÁTICOS DA RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA EM CULTURAS MICROALGAIS

De modo geral, as culturas de microalgas apresentam concentrações que variam entre 0,5 a 5 g/L, o que as torna inerentemente diluídas. Seu tamanho (tipicamente de 5 a 50 μm) e sua massa específica (próxima à da água) são fatores que adicionam alto grau de complexidade no processo de recuperação (GORIN et al., 2015; GRIMA et al., 2003; GUDIN; THEPENIER, 1986; TREDICI, 2010; VANDAMME et al., 2010, 2015; WAN et al., 2014; WIJFFELS; BARBOSA, 2010). Esse alto grau de complexidade é devido aos métodos de recuperação empregados, como por exemplo, a centrifugação e filtração por membranas (métodos convencionais). Assim, essas operações são onerosas (chegando a custar de 20% a 30% ou até mesmo ultrapassar o custo de cultivo da biomassa (GRIMA et al., 2003), devido ao custo dos equipamentos e da energia despendida no processo de recuperação. Mesmo agregando valor à biomassa ao fracioná-la em vários produtos, esses são em geral, são de valor relativamente baixo, como biocombustíveis, produtos nutracêuticos para aplicação humana e animal (BORGES et al., 2011; HEASMAN et al., 2000; VANDAMME et al., 2010, 2015; WAN et al., 2014).

A floculação pode reduzir a demanda energética e o custo da recuperação de biomassa microalgal (BORGES et al., 2011; GRIMA et al., 2003; SCHENK et al., 2008; SCHLESINGER et al., 2012). A floculação é um processo preliminar, que seguido de sedimentação ou flotação apresenta uma capacidade de pré concentração de 20 a 50 vezes (MILLEDGE; HEAVEN, 2013). Quando há a combinação do uso de floclulantes com os métodos físicos pode-se reduzir o consumo de energia do processo de centrifugação de 13,8 MJ.kg^{-1} de massa seca de célula (DW) até 1,34 MJ.kg^{-1} DW (SALIM; VERMUË; WIJFFELS, 2012; T'LAM et al., 2014; WAN et al., 2014).

As microalgas apresentam carga elétrica negativa, o que impede a agregação, mantendo as células em suspensão. Os floclulantes neutralizam as cargas negativas da superfície, resultando na agregação e, por conseguinte, decantando as células (BAKPAI; PROKOP; ZAPPI, 2014; BORGES et al., 2011; GRIMA et al., 2003).

4.1 O PRINCIPAIS MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO DE MICROALGAS

Os métodos de recuperação são divididos na literatura como químicos, físicos, os quais podem ser sequenciais (usados em conjunto), visto que a associação das técnicas de recupera melhoram ou facilitam a operação e/ou a eficiência (BERNHARDT; CLASEN, 1991; CHRISTENSON; SIMS, 2011; DANQUAH et al., 2009).

O método químico é realizado com adição de um componente que neutraliza a carga das células em suspensão. A neutralização pode ser realizada com sais de ferro e alumínio, estes por sua vez, são os mais comumente utilizados. Outra classe de compostos químicos são os polímeros de origem sintética ou biológica, que mais utilizados no processo de coagulação (BERNHARDT; CLASEN, 1991; CHRISTENSON; SIMS, 2011)

Já o processo físico corresponde ao uso de centrífugas, filtros e membranas para separar as microalgas em suspensão. O processo de recuperação utilizando centrífugas é o método mais rápido e eficaz para a recuperação de material em suspensões consideravelmente diluídas, utilizando a diferença de densidade entre partícula e meio líquido. Outra vantagem do processo de recuperação via centrifugação é a fácil manutenção e esterilização do equipamento, sendo adequado para todos os tipos de microalgas. Entretanto os elevados custos de aquisição e operação tornam proibitivo o uso para produtos de baixo valor agregado (BRENNAN; OWENDE, 2010; CHRISTENSON; SIMS, 2011; SHELEF; SUKENIK, 1984; U. S. DOE, 2010).

Outro método bastante utilizado é a filtração, pois apresenta baixo custo. O emprego da filtração é comumente atribuído a microalgas filamentosas. Quando a microalga a ser recuperada não é filamentosa, o processo requer maior energia uma vez que é necessário usar membranas de filtração, e a torta formada apresenta grande resistência à filtração. Nestes casos recomenda-se a filtração de fluxo tangencial, a qual é mais viável para estes tipos de microalgas (CHRISTENSON; SIMS, 2011; DANQUAH et al., 2009; UDUMAN et al., 2010; VONSHAK; RICHMOND, 1988; WOOD, 1987).

As operações utilizadas na recuperação de modo geral, são destinadas de acordo com as características do material a ser recuperado. Assim, a TABELA 4

apresenta as condições mais indicadas para o uso de cada operação unitária e seus benefícios e limitações.

Tabela 4 - Custos dos processos de recuperação

| Método | Sólidos residuais (%) | Recuperação (%) | Maior benefício | Maior limitação |
|----------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------------|--|
| Centrifugação | 12,0-22,0 | > 90,0 | Alta concentração de soldos | Necessidade Energética alta e alto custo |
| Filtração Tangencial | 5,0-27,0 | 70,0-90,0 | Alta concentração de sólidos | Entupimento da membrana, alto custo |
| Sedimentação Gravitacional | 0,5-3,0 | 10,0-90,0 | Baixo custo | Processo lento |
| Flotação com ar dissolvido | 3,0-6,0 | 50,0-90,0 | Promovido em Larga escala | Necessidade de um floculante. |

FONTE: Adaptado de CHRISTENSON; SIMS, (2011); GREENWELL et al., (2010); SHELEF; SUKENIK, (1984); UDUMAN et al., (2010).

4.2 FLOCULAÇÃO

Em soluções que apresentam sólidos em suspensão, e quando se tem interesse na purificação do líquido ou a recuperação dos sólidos, a floculação é um dos métodos utilizados. A floculação é um processo de agregação de partículas finas em suspensão que é comumente realizado para facilitar processos de filtração ou sedimentação. O tamanho dos agregados (flocos) produzidos determina em grande parte o seu comportamento de sedimentação; estrutura dos flocos, especialmente a densidade dos flocos, também afeta as características de sedimentação e é particularmente importante no controle de permeabilidade da torta de filtragem (BOHUSLAV; HANSJOACHIM, 2005).

Partículas finas em suspensão em um líquido tendem a se agregar espontaneamente dependendo da força atrativa, ou a se manter dispersas devido a forças repulsivas. Essas forças repulsivas geralmente se apresentam em forma de cargas elétricas na superfície do sólido, o que leva a uma solvatação parcial da superfície sólida, de forma que gera normalmente uma condição de pH-dependente, fornecendo um meio para controle químico (BOHUSLAV; HANSJOACHIM, 2005).

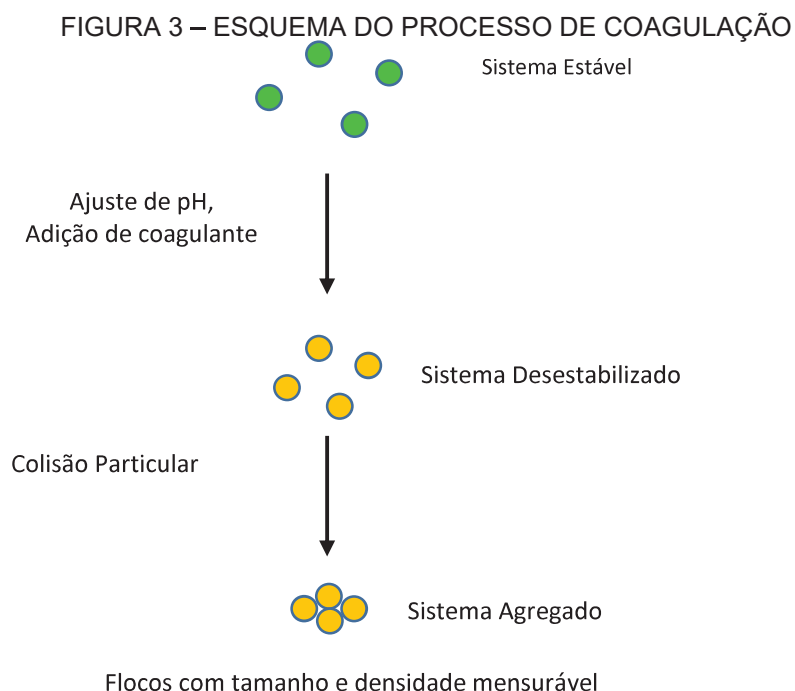
Em muitas suspensões finas, as partículas formam aglomerados a velocidades razoáveis. A formação dos flocos é promovida pela adição de agentes floculantes incluindo eletrólitos fortes, que reduzem as forças repulsivas entre as partículas carregadas ou floculantes poliméricos que podem apresentar caráter catiônico, aniônico ou não iônico. A floculação também é realizada pela adição de materiais de

baixo custo como cal, alumina, ou silicato de sódio (MCCABE; SMITH; HARRIOTT, 1993).

4.2.1 Teoria de Agregação

Os processos de agregação (coagulação/floculação) são utilizados nos mais diversos ramos da indústria, tais como a de papel e celulose, processamento de minério e tratamento de água e água residuária, entre outros. Um fator muito útil nestes processos é o controle do processo de agregação, de forma a otimizar a dosagem de floculante, medições de taxas de agregação ou até avaliar as propriedades dos flocos formados, como por exemplo, tamanho, densidade e resistência (GREGORY, 2009).

Observando de forma esquemática o processo de agregação típica (FIGURA 3), assume-se que suspensão inicial é um coloide estável (de modo geral, em virtude das cargas das partículas). A fim de promover a agregação, é necessário criar uma desestabilização, que normalmente é feita pela simples alteração do pH ou até mesmo utilizando agentes coagulante (GREGORY, 2009)



FONTE: o autor, 2016.

Há grupos principais de flocculantes: os flocculantes inorgânicos e os flocculantes orgânicos. Os flocculantes químicos mais comuns são inorgânicos formados por sais de alumínio, ferro, sulfatos ou cloretos de zinco ou orgânicos formados por polímeros catiônicos, amidos, quitosanas, etc.

Sistemas salinos exigem doses mais elevadas de eletrólitos e do polímero flocculante para que haja melhora da coagulação, mesmo que uma combinação de polieletrólitos e coagulantes químicos seja relatada como mais eficiente (BAKPAL; PROKOP; ZAPPI, 2014; KNUCKEY et al., 2006).

4.2.2 Flocculantes inorgânicos

PAPAZI; MAKRIDIS; DIVANACH (2010) observaram que sais de alumínio são os mais eficientes dos sais inorgânicos, embora causem lise em células. Os cloretos geram agregação quase imediata e os sulfatos apresentam uma demora de 2-5 h para agregar. Observou-se que as concentrações variaram entre 0,5 a 7,5 kg.m⁻³. Embora eficaz, o uso destes sais gera custos proibitivos para a recuperação (BAKPAL; PROKOP; ZAPPI, 2014; ŞIRIN et al., 2012).

Os flocculantes inorgânicos com cloreto de alumínio, cloreto férrico (BAKPAL; PROKOP; ZAPPI, 2014; GORIN et al., 2015), e outros apresentam alta eficiência, embora necessitem de altas dosagens, o que acarreta a contaminação da biomassa (VANDAMME et al., 2010, 2015) e produção de efluentes tóxicos (BORGES et al., 2011; GRIMA et al., 2003).

4.2.3 Flocculantes orgânicos

Os flocculantes orgânicos são compostos de origem sintética ou biológica, geralmente poliméricos e apresentam como principais vantagens a não contaminação da biomassa e baixa dosagem (BORGES et al., 2011; HEASMAN et al., 2000; SINGH et al., 2000). Dentre os flocculantes orgânicos podemos citar a quitina, goma guar, ácido algínico, amido e quitosana, etc. Dentre estes, a quitosana se mostrou eficaz para as microalgas (BAKPAL; PROKOP; ZAPPI, 2014; DIVAKARAN; PILLAI, 2002; HEASMAN et al., 2000; RICHMOND; BECKER, 1986; VANDAMME et al., 2010). Os flocculantes orgânicos em sua maioria são biodegradáveis. No entanto, apresentam alto custo quando comparados com os flocculantes inorgânicos (BORGES et al., 2011; HARITH et al., 2009).

ZENG et al., (2011), relata que com o fator de concentração superior a 20, mais de 90% das células são recuperadas com a adição de 20 mg.L⁻¹ de ácido poli-(y)-glutâmico como floculante orgânico, sendo utilizado para microalgas marinhas ou de água doce. Essa eficiência de floculação pode ser melhorada com processos de pré-tratamento com ozônio (BAKPAI; PROKOP; ZAPPI, 2014; GREENWELL et al., 2009).

Os floculantes poliméricos estão divididos em três grupos, catiônicos, aniônicos e não iônicos. As principais características destes floculantes poliméricos influenciam positivamente o processo de floculação, tais características incluem a massa molecular e a densidade de carga do polímero (BOLTO; GREGORY, 2007; BORGES et al., 2011). Um aumento em qualquer destas propriedades físicas gera melhorias na capacidade de ligação do floculante (BORGES et al., 2011; HARUN et al., 2010). Os polímeros catiônicos agem como coagulantes, neutralizam as cargas negativas da parede celular, assim reduzindo a repulsão elétrica entre as células, formando os chamados flocos. Já os aniônicos ligam-se à superfície da célula na presença de íons formando pontes entre a parede celular e o polímero floculante (BOLTO; GREGORY, 2007).

4.3 FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS

A floculação é uma tecnologia amplamente utilizada em diferentes indústrias que variam de infusão para o tratamento de água e de mineração. Nestas indústrias, a floculação é geralmente usada para separar uma pequena quantidade de impurezas a partir de um grande volume de líquido e o líquido é o produto final. Pelo contrário, quando a floculação é usada para a colheita de microalgas da biomassa colhida é o produto final (VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013).

A floculação é um processo muito presente na recuperação de microalgas, sendo empregado floculantes poliméricos ou inorgânicos. Embora a floculação seja versátil, existem fatores que limitam a sua utilização, como os floculantes inorgânicos (por exemplo o cloreto de ferro ou alumínio) são tóxicos e produzem grandes quantidades de resíduo, enquanto floculantes poliméricos são caros para a utilização. Os biopolímeros, por outro lado são baratos, eficientes e ecologicamente corretos. A eficiência de um processo de floculação está atrelada com a capacidade de manter a viabilidade celular elevada, apresentar efeito rapidamente, apresentar baixo custo, e

proporcionar a coleta do material de forma mais simples possível (RAKESH et al., 2014).

De modo geral, a floculação empregada na recuperação de microalgas é considerada um processo preliminar combinado com flotação ou sedimentação. O processo subsequente é o uso de filtros e centrífugas, e ao fim do processo da desidratação (VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013).

A eficiência do processo de floculação está atrelada as características do meio, pH, dosagem do floculante e a espécie de microalga a TABELA 5 ilustra de modo simplificado as espécies, os floculante, e as dosagens descritas na literatura.

TABELA 5 - RESUMO DE FLOCULANTES, MICROALGA E EFICIÊNCIAS

| Microalga | Floculante | Concentração de Floculante (mg.L ⁻¹) | pH | Eficiência | Referência |
|---------------------------------|--|--|-----------|------------|-------------------------------------|
| Alga | Agua do mar [CaCO ₃ , Mg(OH) ₂] | 0,2 | 9-11,5 | 95% | (AYOUB; LEE; KOOPMAN, 1986) |
| <i>Isochrysis galbana</i> | Quitosana, Zetag 63, Zetag 92 | 1 | 7 | 65,0% | (BILANOVIC; SHELEF; SUKENIK, 1988) |
| <i>Chlorella stigmatophora</i> | Quitosana, Zetag 63, Zetag 93 | 1 | 7 | 90% | (BILANOVIC; SHELEF; SUKENIK, 1988) |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | Sulfato de Alumínio, Cloreto de ferro | | 7 | 95% | (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016) |
| <i>Choriscystis minor</i> | Sulfato de Alumínio, Cloreto de ferro | | 7 | 95% | (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016) |
| <i>Cylindrotheca fusiformis</i> | Sulfato de Alumínio, Cloreto de ferro | | 7 | 95% | (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016) |
| <i>Neochloris sp.</i> | Sulfato de Alumínio, Cloreto de ferro | | 7 | 95% | (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016) |
| <i>Nannochloropsis salina</i> | Sulfato de Alumínio, Cloreto de ferro | | 7 | 95% | (CHATSUNGNOEN; CHISTI, 2016) |
| <i>Parachlorella kessleri</i> | Greenfloc 120 | 10 | 10 | 80,0% | (VANDAMME et al., 2010) |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | Greenfloc 120 | 10 | 10 | 80,0% | (VANDAMME et al., 2010) |
| <i>Spirulina</i> | Quitosana | 1 | 7 | 90% | (DIVAKARAN; PILLAI, 2002) |
| <i>Oscillatoria</i> | Quitosana | 1 | 7 | 90% | (DIVAKARAN; PILLAI, 2002) |
| <i>Chlorella</i> | Quitosana | 1 | 7 | 90% | (DIVAKARAN; PILLAI, 2002) |
| <i>Synechocystis</i> | Quitosana | 1 | 7 | 90% | (DIVAKARAN; PILLAI, 2002) |
| <i>Scenedesmus dimorphus</i> | Amido catiônico | 10 | 7 | 95% | (HANSEL; GUY RIEFLER; STUART, 2014) |
| <i>Chaetoceros muelleri</i> | Alcalino | | 9 a 12 | 100% | (HUO et al., 2016) |
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> | Alcalino | | 9 a 12 | 94,7% | (HUO et al., 2016) |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i> | LT-25 | 0,5 | 10 a 10,6 | 95,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Chaetoceros muelleri</i> | LT-25 | 0,5 | 10 a 10,6 | 95,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Thalassiosira pseudonana</i> | LT-25 + FeCl ₃ .6H ₂ O + pH | 0,5 | 10 a 10,6 | 80,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Attheya septentrionalis</i> | LT-25 + FeCl ₃ .6H ₂ O + pH | 0,5 | 10 a 10,6 | 95,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Nitzschia closterium</i> | LT-25 | 0,5 | 10 a 10,6 | 90,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Skeletonema sp.</i> | LT-25 | 0,5 | 10 a 10,6 | 95,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Tetraselmis suecica</i> | LT-25 | 0,5 | 10 a 10,6 | 85,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Rhodomonas salina</i> | LT-25 | 0,5 | 10 a 10,6 | 85,0% | (KNUCKEY et al., 2006) |
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | Quitosana | 50 | 7,2 | 95% | (BEACH et al., 2012) |
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | Sulfato Férrico | 50 | 7,2 | 25% | (BEACH et al., 2012) |
| <i>Dunaliella salina</i> | Alumínio (Eletrofloculação) | 0 | | 75,0% | Xiong, 2015 |

FONTE: o autor, 2016.

4.3.1 Auto floculação

A auto floculação é uma ferramenta em potencial para a realização da recuperação a baixo custo da microalga para os mais diversos fins. Um modo é a utilização de meio de cultura que facilite a floculação sem ser necessário o uso de um agente floculante (AYOUB; LEE; KOOPMAN, 1986; BRADY; POHL; HEWSON, 2014; KNUCKEY et al., 2006).

As microalgas são carregadas negativamente, ocasionando repulsão mútua. Esse fenômeno ajuda a manter as células suspensas. A água do mar geralmente apresenta variação de pH entre 8 e 11, assim, ocorre a auto floculação das microalgas devido a interações eletrostáticas entre os ânions e cátions bivalentes tais como Mg^{+2} , a formação de Ca^{+2} e Mg^{+2} com a precipitação em hidróxidos, e possivelmente, a formação de calcita. Ainda, a auto floculação pode ocorrer pela produção de material orgânico extracelular (AYOUB; LEE; KOOPMAN, 1986; BRADY; POHL; HEWSON, 2014)

Na água, em condições ambientais, a superfície da microalga é aniônica. As cargas surgem a partir de grupos carboxila, fosforilas e aminas. Os quais sua desprotonação seguem os seguintes pKa's: carbonila (pKa = 2 – 6), fosforila (pKa = 5.6–7.2) e amina (pKa = 8.6–9.0). (BRADY; POHL; HEWSON, 2014; HADJOUDDJA; DELUCHAT; BAUDU, 2010).

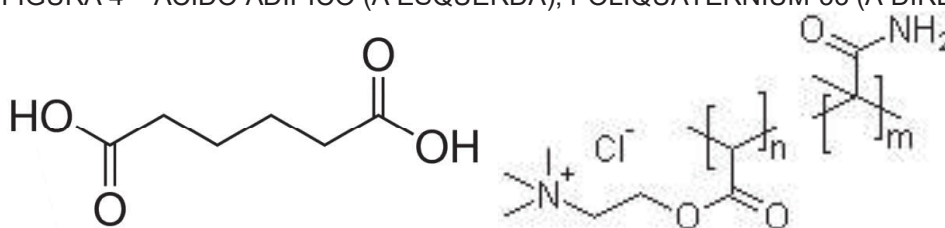
Várias espécies de microalgas tendem à auto floculação devido ao seu metabolismo mais lento (BAKPAI; PROKOP; ZAPPI, 2014; UDUMAN et al., 2010). Şirin et al., (2012) constataram que *Phaeodactylum tricornutum* é uma microalga muito eficiente na auto floculação a um pH de 9,75, levemente acima do seu cultivo natural de pH 9,12. No cultivo natural, a taxa de sedimentação é muito lenta. Neste caso, a auto floculação pode ser o método mais eficiente para uma concentração inicial de células (BAKPAI; PROKOP; ZAPPI, 2014).

4.4 FLOCULANTES

4.4.1 Zetag® 8165

O agente floculante Zetag® 8165 (FIGURA4) é um polieletrólito catiônico, composto por ácido adípico (CAS 124-04-9) e poliquaternium-33 (CAS 69418-26-4) também conhecido por Ethanaminium, N, N, N-trimetil-2-[(1-oxo-2-propenil)oxi] - cloreto, com polímero 2-propenamida (BASF, 2013a; CHEMBLINK, 2015a, 2015b)

FIGURA 4 – ÁCIDO ADÍPICO (À ESQUERDA), POLIQUATERNIUM-33 (À DIREITA).



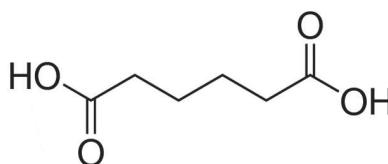
FONTE: CHEMBLINK (2015A, 2015B).

Suas moléculas apresentam toxicidade com dose letal para peixes (96 h) e plantas aquáticas (72 h) de 1 a 10 mg.L⁻¹. Animais aquáticos invertebrados(48 h) entre 10 e 100 mg.L⁻¹ (BASF, 2013a).

4.4.2 Zetag® 8185

O agente floculante Zetag® 8185 (FIGURA 5) é um polieletrólito catiônico, composto por ácido adípico (CAS 124-04-9) e um copolímero de acrilamida (protegido) (BASF, 2013b).

FIGURA 5 – ÁCIDO ADÍPICO



FONTE: CHEMBLINK (2015B).

Suas moléculas apresentam toxicidade com dose letal para peixes (96 h) de 1 a 10 mg.L⁻¹ e animais aquáticos invertebrados(48 h) entre 10 e 100 mg.L⁻¹ (BASF, 2013b).

4.4.3 Zetag ® 7652

O agente flocculante Zetag ® 7652 é um polieletrólito catiônico, composto por ácido adípico (CAS 124-04-9) (FIGURA 5) e um copolímero de acrilamida (protegido) (BASF, 2015).

Suas moléculas apresentam toxicidade com dose letal para peixes (96 h) de 1 a 10 mg.L⁻¹ e animais aquáticos invertebrados(48 h) entre 10 e 100 mg.L⁻¹ (BASF, 2015).

4.4.4 Zetag ® 4120

O agente flocculante Zetag ® 4120 é um polieletrólito aniônico, sua composição tem como base um polímero conhecido como poliacrilamida, o polímero exato não é de conhecimento público sendo protegido pelo fabricante.

A (s) molécula (s) presente (s) no Zetag ® 4120 não apresenta (m) toxicidade para o meio sendo necessária dosagem acima de 100 mg.L⁻¹ para peixes e animais aquáticos invertebrados.

4.4.5 Magnafloc ® LT 22

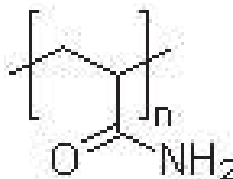
O agente flocculante Magnafloc ® LT 22 é um polieletrólito catiônico, composto por ácido adípico (CAS 124-04-9) (BASF, 2013c).

Suas moléculas apresentam toxicidade com dose letal para peixes (96 h) de 1 a 10 mg.L⁻¹ e animais aquáticos invertebrados(48 h) entre 10 e 100 mg.L⁻¹ (BASF, 2013c).

4.4.6 Magnafloc ® 351

O agente flocculante Magnafloc ® 351 é um polieletrólito de poliacrilamida de alto peso molecular. Sua composição é de 80 a 90% em peso de 2-propenamida (CAS 9003-05-8) (BASF, 2013d; CIBA, 2006).

FIGURA 6 – ESTRUTURA MOLECULAR DO 2-PROPENAMIDA



FONTE: CHEMBLINK (2015C)

4.5 NEFELOMETRIA

A turbidez é traduzida como uma propriedade óptica, que é mensurada pelo efeito da dispersão, que uma fração de material sólido exposto à luz produz. Quanto maior a intensidade de luz dispersa, maior é o valor da turbidez. As interações entre luz-partícula são oriundas do formato e tamanho do sólido e do comprimento de onda incidente (ASTM, 2016).

O método baseia-se na comparação da intensidade de luz dispersa pelas partículas em suspensão, por uma suspensão de referência. Os valores obtidos de turbidez são determinados por um nefelômetro, que mede a dispersão de luz a partir de uma amostra em uma angulação de 90° em relação à linha central da fonte luminosa (ASTM, 2016).

A análise de turbidez é um método prático e simples, sendo conveniente para medidas rápidas em campo. Por esse motivo, escolheu-se trabalhar com a nefelometria como análise padrão de acompanhamento das culturas e dos processos de floculação.

CAPÍTULO II – CULTIVO EM ESCALA AMPLIADA

1 INTRODUÇÃO

As microalgas *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80 são de grande relevância para a comunidade científica uma vez que são produtoras de lipídios e de carotenoides, respectivamente. Neste trabalho, foi estudado o processo de cultivo desde a escala laboratorial chegando a escala semi piloto.

As microalgas *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80 foram cultivadas em meio BG11 e DUN respectivamente. Em escala laboratorial as culturas foram controladas e cultivadas de forma que garantissem uma cultura unialgal. Porém, na escala semi piloto, as culturas foram expostas a uma possível contaminação sendo observada sua resistência a outras culturas que não fosse a esperada.

Foram determinados os parâmetros cinéticos, os quais são de grande relevância para o acompanhamento da cultura, sendo eles, a velocidade específica de crescimento (μ), a produtividade ($\text{mg. L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), e a curva de crescimento típica.

Os cultivos foram iniciados com volume de 10 mL, sendo repicado a uma taxa de 25% v/v até se obter, aproximadamente, 2 L de inóculo, procedimento este, sendo realizado em frascos Erlenmeyer. Posteriormente, os volumes foram repicados a uma taxa de 50% (v/v) até a obtenção de 6 L de inóculo. A partir de 6 L foi cultivado em garrações de 14, 20 e 50 L, mantendo a taxa de inoculação. Obtendo o volume de 70 L de inóculo, foi inoculado em um reator de fundo cônico com capacidade de 200 L.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos do presente trabalho foram realizados com os micro-organismos *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80. Ambas encontradas no banco de cepas do Laboratório de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná.

2.1 MEIOS DE CULTIVO

2.1.1 *Neochloris oleoabundans*

O cultivo de *N. oleoabundans*, inicialmente foi feito utilizando o meio Bristol (BOLD, 1949), utilizado em escala laboratorial. Este é um meio de cultivo clássico recomendado para o trabalho com clorófitas, como indicado na TABELA 6

TABELA 6 – COMPOSIÇÃO DO MEIO BRISTOL

| Nutrientes | Concentração Mássica |
|--------------------------------------|----------------------|
| | g/L |
| NaNO ₃ | 0,25 |
| CaCl ₂ .H ₂ O | 0,025 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 0,075 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,075 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,175 |
| NaCl | 0,025 |

FONTE: BOLD, (1949).

Para o cultivo em escala ampliada, foi utilizado, inicialmente, o meio Bristol o qual apresenta capacidade de produção teórica máxima de 0,46 g.L⁻¹. Para permitir uma maior produção de biomassa, optou-se pelo meio BG 11 para os demais cultivos. Para a escolha do meio BG 11 (TABELA 7) como meio para a utilização neste estudo, foi considerado em relação a sua capacidade de produção de biomassa. A capacidade do meio BG 11 foi de 2,8 g.L⁻¹ de concentração, sendo maior que os demais meios apresentados na TABELA 2.

TABELA 7 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTIVO BG 11

| Composição | Concentração (g/L) |
|--|--------------------|
| NaNO ₃ | 1,5 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,04 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 0,075 |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 0,036 |
| Na ₂ CO ₃ | 0,02 |
| Na ₂ EDTA | 0,001 |
| C ₆ H ₈ O ₇ | 0,006 |
| (NH ₄) ₅ Fe(C ₆ H ₄ O ₇) ₂ | 0,006 |
| H ₃ BO ₃ | 0,00286 |
| MnCl ₂ .4H ₂ O | 0,00181 |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0,00022 |
| Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O | 0,00039 |
| CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,00008 |
| Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O | 0,00005 |

FONTE: STANIER et al., (1971).

2.1.2 *Dunaliella salina*

Para o cultivo da *Dunaliella salina*, foi utilizado o meio *Dunaliella* (Dun) (SAG, 2008), que é um meio baseado em água do mar artificial. O meio foi modificado (TABELA 8) para facilitar o cultivo, retirando-se o extrato de solo e substituindo a água do mar artificial por um sal marinho comercial Salinity™ (SEACHEM, 2012).

TABELA 8 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DUN MODIFICADO

| Nutrientes | Concentração g/L |
|---------------------------------|---------------------|
| NaNO ₃ | 0,2 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,02 |
| Salinity™ | 36,27 |

FONTE: O AUTOR, 2015.

2.2 ESTUDOS CINÉTICOS DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL

Os estudos cinéticos de ambos os micro-organismos alvos, foram avaliados durante 20 a 30 dias, sendo padronizada a amostragem, sempre no período matutino. Foram avaliados absorbância, concentração (g/L) e número de células (células/mL).

A cinética permitiu a determinação dos valores de produtividade e da velocidade específica média de crescimento. As quais são fatores importantes para acompanhar de forma qualitativa e quantitativa a biomassa. As equações utilizadas estão listadas abaixo.

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad Y_{P/X} = \frac{dP}{dX} \quad \text{Equação 1}$$

2.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

2.3.1 Biomassa

As determinações de biomassa foram realizadas por meio de duas técnicas, a primeira conhecida como análise gravimétrica e a outra por simples contagem de células em câmara de contagem através de microscopia ótica.

A primeira consiste em obter a massa livre de qualquer umidade. Assim, é realizada a filtração do material, que em seguida é seco em uma estufa de secagem até que se atinja massa constante. A estufa operou a aproximadamente 70°C, e o material permaneceu por volta de 15h. O meio filtrante utilizado foi uma membrana de acetato de celulose de 0,45 µm, também seca previamente. O volume filtrado foi padronizado em 100 mL. Para a obtenção da biomassa seca, seguiu-se a equação:

$$X_{wc} = (P_f - T) * 10 \quad \text{Equação 2}$$

Onde X_{wc} é a biomassa seca, em g.L⁻¹, P_f é o valor da massa final após massa constante, em g, T é a tara do meio filtrante, em g. Já considerando o volume e as conversões necessárias utiliza-se 10 como fator de conversão final obtendo o valor de X_{wc} .

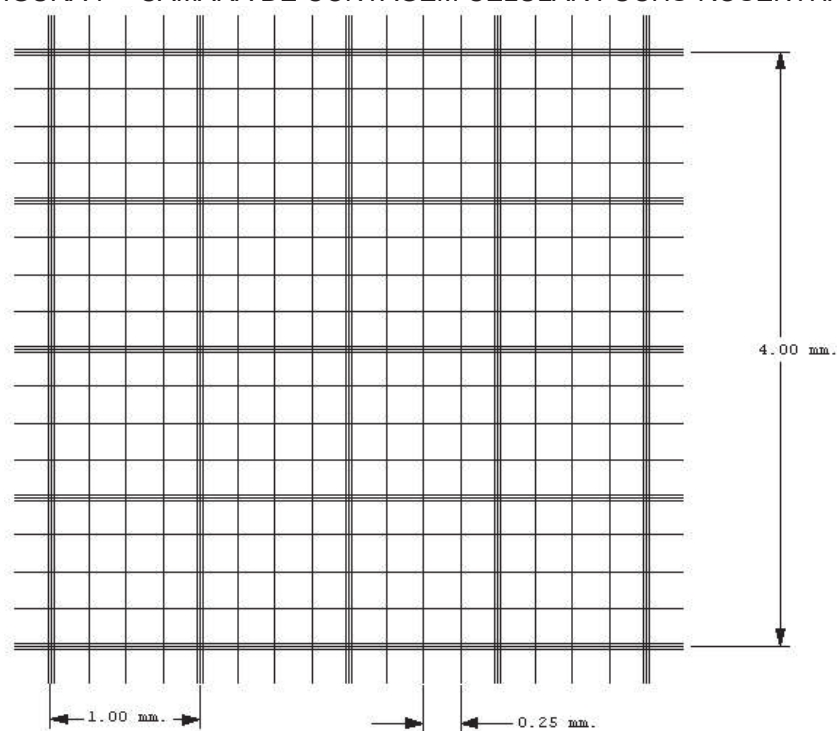
O segundo método consistiu na contagem em câmara, conhecida como Fuchs-Roshenthal, com 0,2 mm de profundidade e com as seguintes dimensões descritas na FIGURA 7. A câmara é dividida em 16 campos maiores de 1 mm² e subdivididas em 16 regiões menores de 0,0625 mm². Para melhor ampliar a significância

estatística, as 4 extremidades dos campos maiores, foram utilizadas sendo o cálculo realizado conforme:

$$N^{\circ} \text{ Cell} = \frac{C.d.1000}{V_{FR}} \quad \text{Equação 3}$$

Onde $N^{\circ} \text{ Cell}$ é o número de celular em células. mL^{-1} ; C é a média de células contadas nos campos; d é o fator de diluição e V_{FR} é o volume da câmara de contagem $0,2 \text{ mm}^3$.

FIGURA 7 – CÂMARA DE CONTAGEM CELULAR FUCHS-ROSENTHAL



FONTE: HAUSSER (2016).

Para a contagem de *Dunaliella salina*, a técnica utilizada é a adição de uma gota de formaldeído 4% v/v para imobilizar a célula (CHOW et al., 2015). Uma vez que a célula apresenta alta mobilidade.

2.3.2 Nefelometria

Para analisar a concentração de biomassa foi utilizado a turbidez de modo a facilitar o processo de análise. O processo consiste em determinar a quantidade de partículas em suspensão através do efeito de espalhamento de luz. O processo de calibração é feito com um ajuste linear utilizando os padrões de 0,1, 20, 100 e 800 NTU. O equipamento ajusta a curva e faz as leituras comparando com os padrões de referência (ASTM, 2013, 2016).

2.4 CULTIVO DE BIOMASSA MICROALGAL

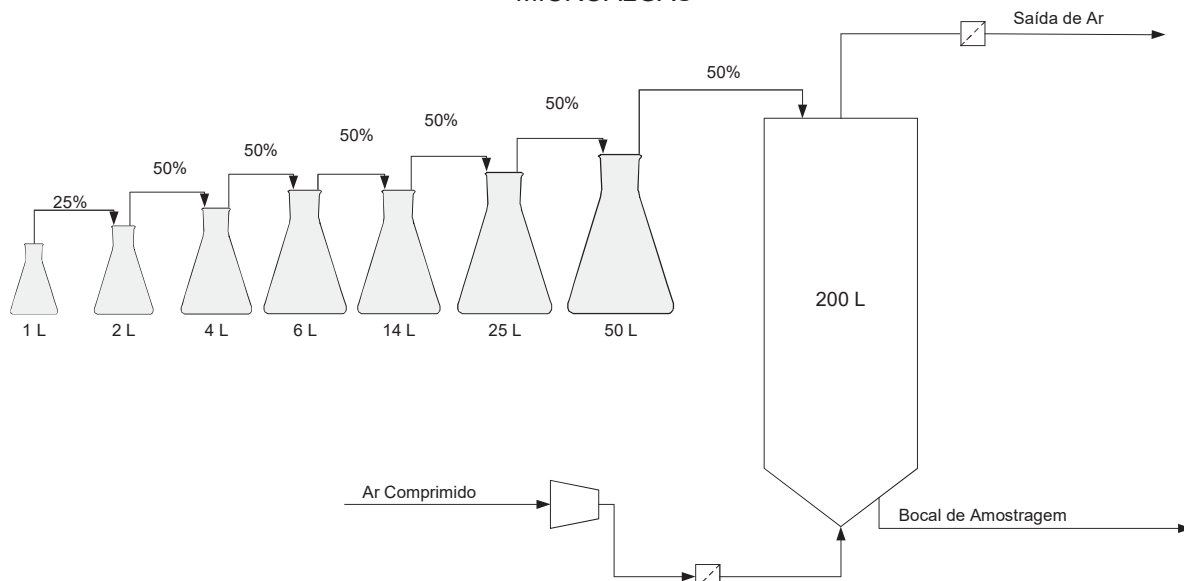
Os cultivos de ambas as microalgas foram iniciados com um volume inicial de 10 mL em frasco Erlenmeyer de 125 mL em modo estático. A inoculação foi conduzida a uma taxa de inoculação de 25% (v/v). Após 15 dias foi feito um novo repique mantendo a taxa de inoculação, de modo sucessivo até um volume de 2 L completos.

Frascos Erlenmeyer de 6 L foram utilizados com sistema de aeração (o qual apresenta função de agitação) e bombas de aquário, simulando um reator em escala laboratorial. Os volumes nessa fase foram inoculados a uma taxa mais alta de 50% (v/v). A aeração foi promovida por bombas de diafragmas utilizadas para oxigenação de aquários. Adicionou-se à corrente aproximadamente uma taxa de 44,44 g/dia de dióxido de carbono sendo utilizado como suplementação de carbono para o processo fotossintético de forma intermitente a cada 30 min.

A partir de 6 L de inoculo, foram utilizados garrafões de 14 L, mantendo as taxas de 50% (v/v). O mesmo procedimento foi realizado até um volume de 70 L.

A etapa final de produção de 180 L foram utilizados tanques com fundo cônicos com capacidade de 200 L. A alimentação da corrente de ar foi realizada na região inferior do tanque, sendo o ar filtrado por um filtro de lã de vidro. O processo de escalonamento está esquematizado na FIGURA 8.

Figura 8 – FLUXOGRAMA DE PROCESSO DO ESCALONAMENTO PARA O CULTIVO DE MICROALGAS



FONTE: O AUTOR, 2016.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os estudos com os cultivos das culturas de *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80 foram realizadas em escala laboratorial e semi piloto. Ambas as culturas foram expostas a condições ambientais e verificadas a resistência a contaminações através de microscopia ótica. Nesta fase, foi determinado os parâmetros cinéticos e acompanhando estes parâmetros, determinou-se os repiques da cultura, realizando assim o escalonamento gradativo.

3.1 *Neochloris oleoabundans*

Durante o acompanhamento da cultura observou-se que no meio Bristol o micro-organismo produziu $0,44 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa (em 14 dias) sendo considerada insatisfatória quando comparada com a literatura a qual, é relatado valores de $1,14$ a 6 g.L^{-1} . Porém, o valor obtido é devido a capacidade máxima do meio, quando realizada a massa teórica de *Neochloris oleoabundans* em meio Bristol o valor máximo é de $0,46 \text{ g.L}^{-1}$. Assim, para que fosse possível uma melhora da cultura foi realizado um levantamento bibliográfico, onde foram identificados relação nitrogênio-fosforo, osmolaridade, entre outros fatores, os quais justificaram a alteração do meio. O meio escolhido foi o BG 11 (STANIER et al., 1971) para uma maior produção de

biomassa, devido a sua capacidade teórica maior ($2,8 \text{ g.L}^{-1}$) que os demais meios testados.

Em escala laboratorial, a cultura com o meio BG 11 apresentou biomassa de $2,28 \text{ g/L}$ após 14 dias, sendo um valor compatível com concentrações encontradas na literatura que variam de 1 a $6,5 \text{ g.L}^{-1}$ (GORIN et al., 2015; GOUVEIA et al., 2009; GRIMA et al., 2003; GUDIN; THEPENIER, 1986; KLOK et al., 2013; LEVINE; COSTANZA-ROBINSON; SPATAFORA, 2010; LI et al., 2008; LICHENG, 2016; MURRAY et al., 2012; PRUVOST et al., 2009; SANTOS et al., 2012; TREDICI, 2010; VANDAMME et al., 2010, 2015; WAN et al., 2014; WANG; LAN, 2011; WIJFFELS; BARBOSA, 2010).

Tanto nos cultivos em meio Bristol, quanto em BG 11 a aeração mostrou-se essencial para promover a agitação. Durante o cultivo *N. oleoabundans*, foi observado que em baixas aerações/agitação uma parcela das células tendia a se depositar no fundo do frasco, apresentando coloração amarelo-esverdeado. Quando foi promovida maior aeração/agitação houve a suspensão do material e mudança da coloração para um verde mais vívido. A agitação tem como objetivo suspender as células no meio aquoso, além de minimizar o efeito do sombreamento mútuo, o qual é prejudicial a cultura. As alterações promoveram um fortalecimento da cultura que é oriunda de uma possível maior da exposição a luz, e por conseguinte, a melhora da fotossíntese (RICHMOND, 1992; SERENOTTI; CRESPI; TORRES, 2004).

O aumento de escala do cultivo de *N. oleoabundans* foi realizado em uma estufa sem controle de temperatura em um tanque de fundo cônico de 200L com entrada de ar e uma saída de amostra (FIGURA 9). Os resultados da cinética do cultivo externo e aberto estão mostrados na Figura 10.

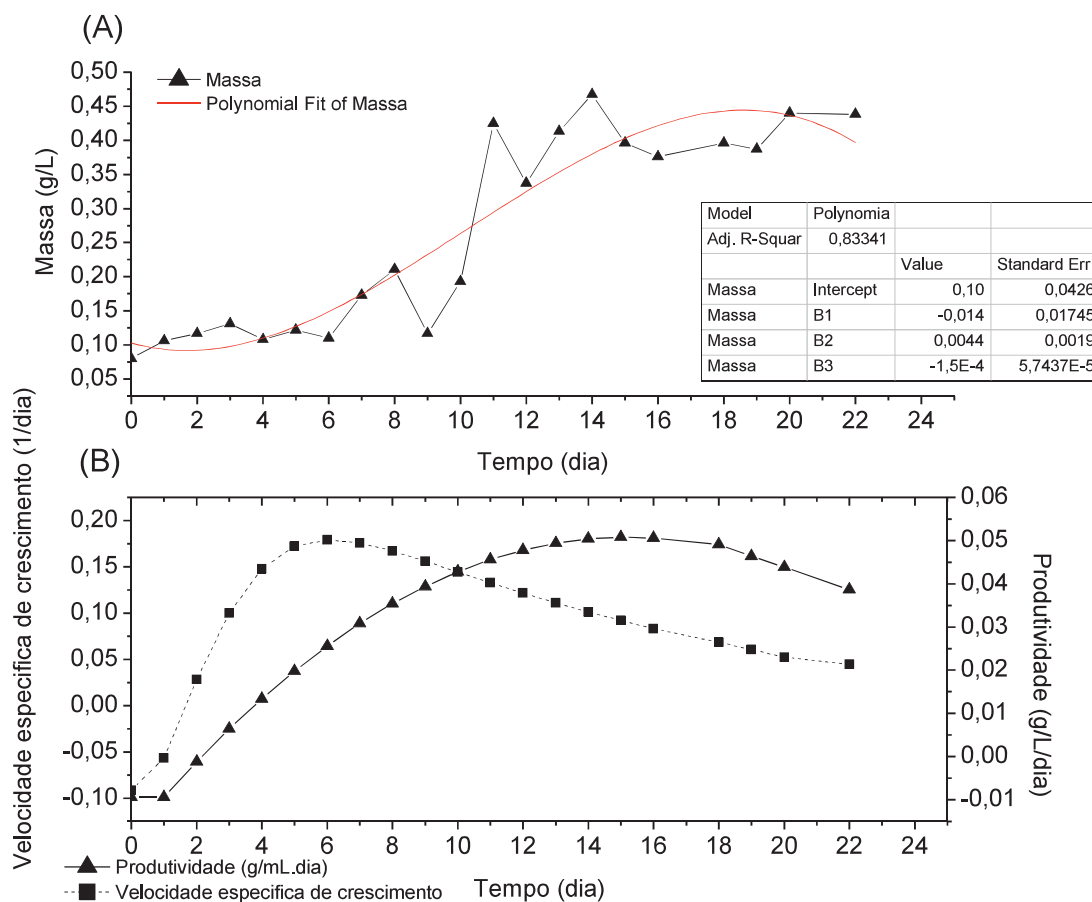
Figura 9 – TANQUE UTILIZADO PARA O ESCALONAMENTO.



FONTE: O AUTOR, 2016.

O cultivo de *N. oleoabundans* foi realizado em uma estufa em condições ambientais, sem controle de temperatura. A falta do controle dessa variável possivelmente provocou a oscilação da concentração. Outro fator importante a ser observado (FIGURA 10-A), é que nos 10 primeiros dias de cultivo a curva não apresentou aumento significativos podendo ser atribuído a competição com contaminantes (protozoário). Sinais de contaminação foram verificados visualmente através de microscopia ótica no décimo dia de cultivo. Para controlar a contaminação, aumentou-se a salinidade para 10% m/v. O aumento da salinidade foi realizado utilizando o sal marinho comercial Salinity™. Essa estratégia auxiliou para que a contaminação fosse minimizada.

FIGURA 10 – CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *N. OLEOABUNDANS* EM CULTIVO REALIZADO EM ESTUFA E TANQUE DE 180 L



FONTE: O AUTOR, 2016

NOTA: CULTURA INOCULADA NO DIA 19 DE OUTUBRO DE 2015.

A FIGURA 10 ilustra a curva cinética de biomassa (g.L^{-1}) e as curvas de produtividade ($\text{g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) e velocidade específica (dia^{-1}) da cultura. Pode-se observar que na FIGURA 10-A, foi realizado um ajuste indicando a tendência de crescimento da cultura de microalga, e este ajuste de terceira ordem apresentou uma correlação de 83,3%. No entanto, o polinômio gerado não contempla todas as oscilações que a cultura sofreu, assim como pode ser observado na FIGURA 10-B os parâmetros de produtividade e velocidade específica apresentaram valores negativos, os quais são oriundos da não contemplação de todos os fenômenos observados.

Embora a concentração mássica tenha apresentado crescimento predominantemente linear até o sexto dia de cultivo (FIGURA 10-A), a velocidade de crescimento (FIGURA 10-B) obtida ponto a ponto observada no mesmo intervalo era alta. A velocidade média de crescimento no intervalo dos 6 primeiros dias observada foi de $0,005 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. A partir do 6 dia, a velocidade média de crescimento foi de

0,021 g.L⁻¹.dia⁻¹. A velocidade específica de crescimento máxima obtida durante o cultivo foi de 0,18 dia⁻¹ no sexto dia de cultivo, a velocidade específica do processo é observada dentro da faixa observada na literatura a qual varia de 0,15 a 1,96 g.L⁻¹.dia⁻¹ (LI et al., 2008; MURRAY et al., 2011). Quando analisamos os efeitos das contaminações pode-se observar que os micro-organismos contaminantes apresentaram impacto negativo no crescimento (competição, predação, etc.), uma vez que a velocidade média foi de 0,005 g.L⁻¹.dia⁻¹. A adição do sal marinho comercial no décimo dia para promover o controle dos contaminantes foi efetiva, visto que o aumento da velocidade média foi de 4,2 vezes maior posterior a adição, o que levou a cultura alcançar valor máximo de concentração mássica de 0,467 g.L⁻¹. Embora a produtividade não tenha sido afetada, mantendo crescimento basicamente constante. A produtividade (FIGURA 10-B) máxima obtida foi de 0,05 g.L⁻¹.dia⁻¹ no décimo quarto dia

O valor médio da velocidade específica de crescimento (0,116 dia⁻¹) e produtividade (0,038 g.L⁻¹.dia⁻¹) da cultura de *Neochloris oleoabundans*, ambos os valores estão abaixo do esperado quando são comparados com a literatura sendo 0,33 a 0,98 dia⁻¹ e 0,06 a 0,191 g.L⁻¹.dia⁻¹ respectivamente (LICHENG, 2016; SANTOS et al., 2012).

3.2 *Dunaliella salina*

Do mesmo modo que a *N. oleoabundans*, a *D. salina*, foi cultivada primeiramente em um volume de 10 mL e, em seguida, transferida para maiores volumes, seguindo a taxas de inoculações de 25%. Seu cultivo é mais simples e com menor probabilidade de contaminação, uma vez que o meio Dun (SAG, 2008), apresenta alta salinidade, com aproximadamente 60 g.L⁻¹ de cloreto de sódio. Tal fato é favorável à preservação da cultura monoalgal ou até mesmo axênica.

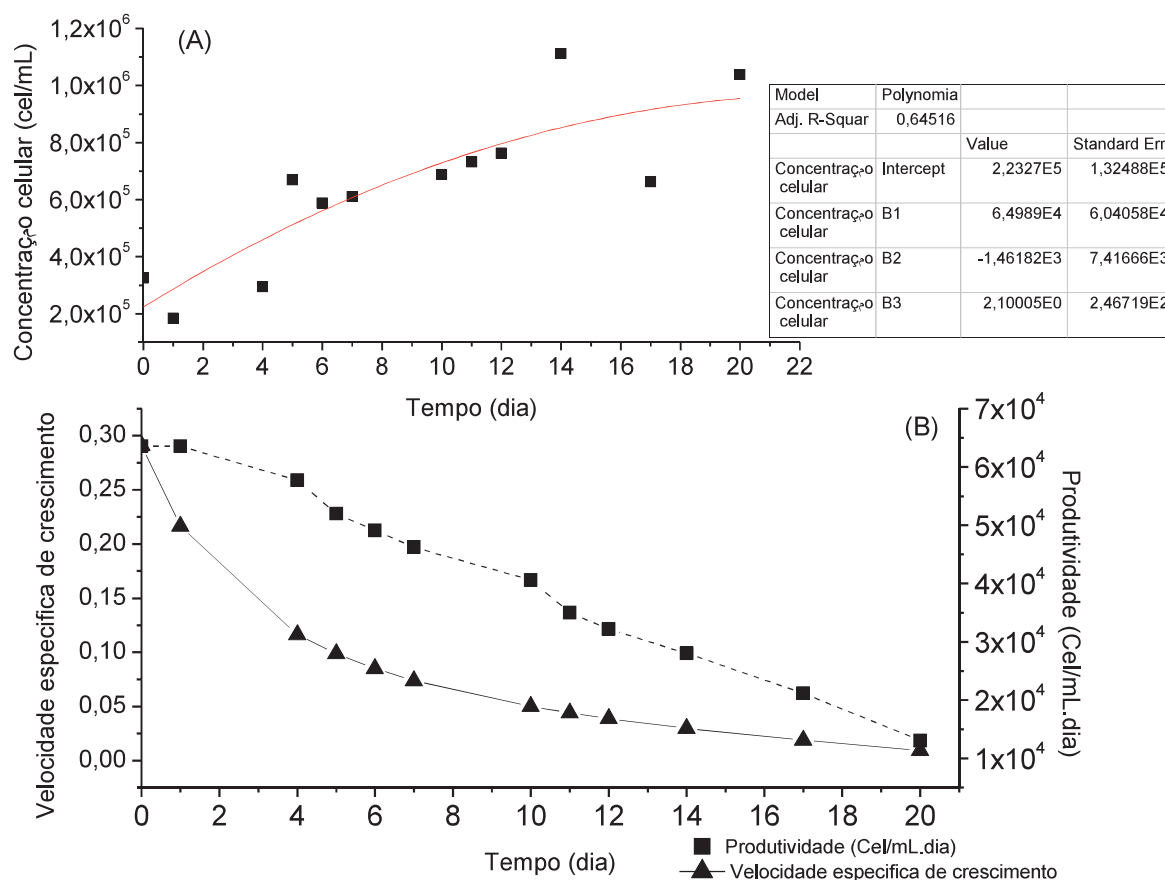
Na FIGURA 11, estão ilustradas as culturas conduzidas de *D. salina*. A imagem da esquerda corresponde a frascos com capacidades de 14, 20 e 50 L respectivamente. Já a imagem da direita apresenta os inoculos reserva, utilizados no processo de cultivo com as taxas de inoculação em 50% e 25%, respectivamente.

FIGURA 11 – INÓCULOS DE *Dunaliella salina*

FONTE: o autor, 2016.

O acompanhamento dos parâmetros da cultura da microalga *D. salina*, foi realizado da mesma maneira do que para *N. oleoabundans*, conforme item 3.1, de acordo com a Figura 12.

O crescimento celular mostrou-se oscilante, como ilustrado na FIGURA 12-A, apresentando concentração celular máxima de $1,11\text{E}+06 \text{ cel. mL}^{-1}$ em 14 dias. A partir da curva cinética celular (FIGURA 12-B), foi realizada uma regressão polinomial de 3º grau, com um valor de R^2 de 0,6452. O baixo ajuste pode ser atribuído a erros (em laboratório) de amostragem ou de contabilização das células. Entretanto, o ajuste indicou tendência linear, o que era esperado para as culturas de microalgas. Um polinômio de terceira ordem foi tomado como base para o levantamento dos dados complementares ilustrados na FIGURA 12-A. A curva de velocidade específica de crescimento foi levantada ponto a ponto gerando parte da curva indicada da FIGURA 12-B, a parte complementar é a curva da produtividade também realizada ponto a ponto. Pode-se observar que a produtividade decai linearmente, porém a velocidade de crescimento específica apresenta uma redução com o passar do tempo. Nos primeiros 4 dias a velocidade da cultura reduziu 60,12 % sendo a maior redução durante o processo observado. A velocidade no período de acompanhamento da cultura reduziu aproximadamente 96,7%, sendo que a estabilização se inicia no décimo dia de cultivo. A produtividade com o passar do tempo de cultivo também diminui, acompanhando a redução da velocidade, o que era esperado uma vez que o substrato estava sendo consumido.

FIGURA 12 – PARÂMETROS CINÉTICOS DA *D. salina*

FONTE: O AUTOR, 2016.

NOTA: CULTIVO REALIZADO 11 DE JULHO DE 2015.

Em cultivo externo realizado em um volume de 150 L, a *D. salina* apresentou boa resistência à contaminação, como já era esperado pelo alto teor de sal presente no meio (acima de 60 g.L⁻¹ de cloreto de sódio). Embora após 20 dias em tanque aberto tenha ocorrido contaminação por pequenos protozoários e bactérias, os quais foram observados por microscopia ótica, predominou a população de *Dunaliella*. Durante as amostragens, foi observado que no fundo do tanque formava-se um material esbranquiçado áspero e duro, o qual pode ser oriundo da precipitação e a sedimentação dos sais uma vez que o pH da cultura é basificado (pH inicial 7,3 pH final 8,5); com o passar do tempo, uma quantidade de espuma se formava. Essa espuma se concentrava principalmente nas regiões próximas às saídas dos aeradores.

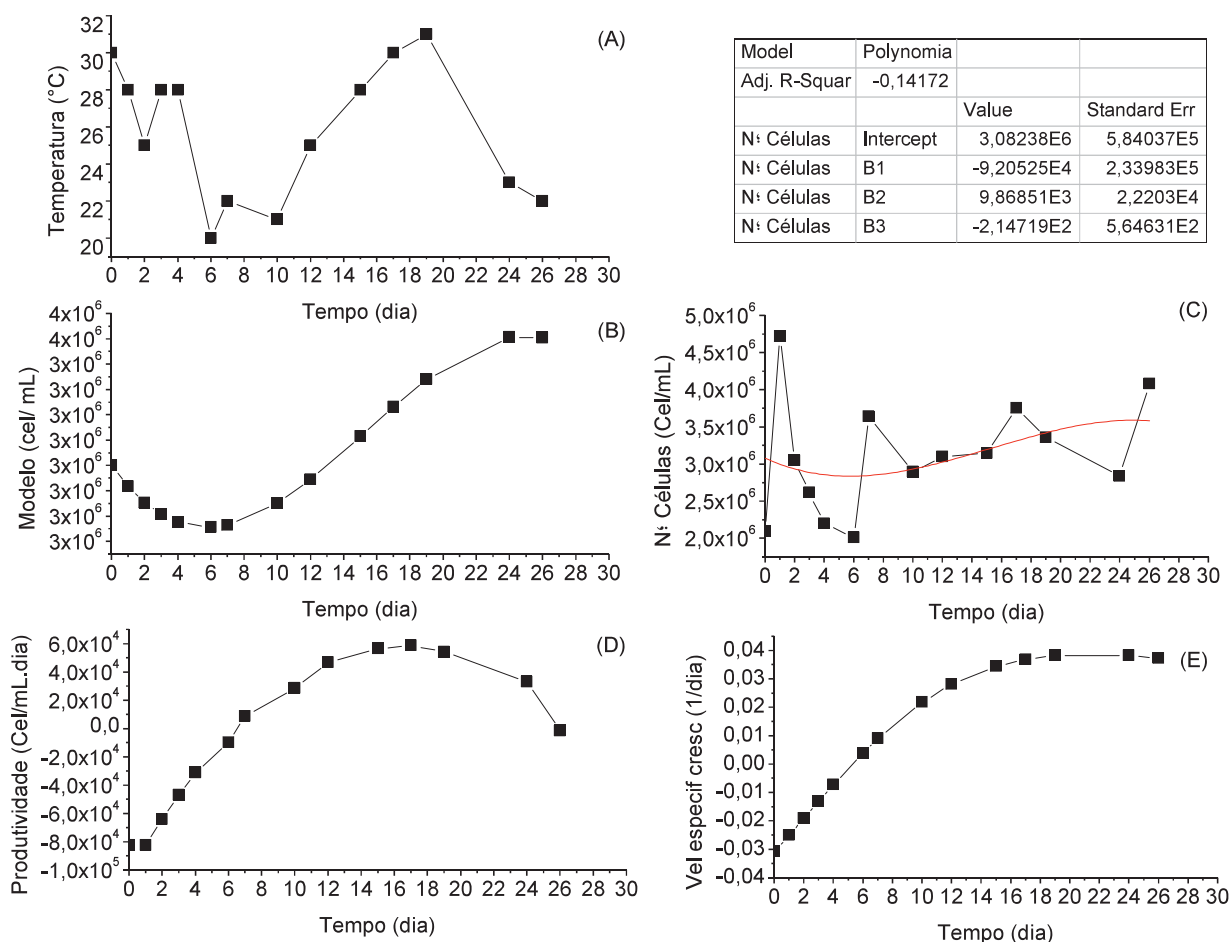
O cultivo externo de *D. salina* apresentou variações na curva da cinética de crescimento celular (FIGURA 13-C), tais oscilações podem ser atribuídas às variações da temperatura ambiente como indicada na FIGURA 13-A. Foi realizado um ajuste da

curva da cinética de crescimento para ilustrar a sua tendência e, a partir do polinômio de terceiro grau, foram obtidas as demais curvas ilustradas na FIGURA 13.

A produtividade máxima estimada foi atingida em 15 dias de cultivo sendo equivalente a $5,86\text{E}+04 \text{ cel.mL}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ (FIGURA 13-D). Já a velocidade máxima foi de $0,038 \text{ dia}^{-1}$ (FIGURA 13-E), com desaceleração do crescimento a partir do décimo quinto dia de cultivo e apresentando-se constante a partir de então. A curva tanto de produtividade quanto de velocidade específica foram obtidas ponto a ponto.

Analisando os cultivos da *D. salina* observa-se que o cultivo interno (FIGURA 12) apresentou melhor produtividade celular ($6,35\text{E}+04 \text{ cel.mL}^{-1}.\text{dia}^{-1}$), quando comparada com o cultivo externo (FIGURA 13) com produtividade de ($5,65\text{E}+04 \text{ cel.mL}^{-1}.\text{dia}^{-1}$). Embora o cultivo externo tenha apresentado maior concentração celular ($4,72\text{E}+06 \text{ cel. mL}^{-1}$) quando comparado com o cultivo interno ($1,11\text{E}+06 \text{ cel.mL}^{-1}$).

FIGURA 13 - DADOS CINÉTICOS DE *D. salina* EM CULTIVO EXTERNO.



FONTE: o autor, 2016.

NOTA: CULTIVO INICIADO DIA 13 DE OUTUBRO DE 2014.

CAPÍTULO III – RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL POR FLOCULAÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Dentre os processos de recuperação de microalga a floculação surge como uma ótima alternativa, pré concentrando a biomassa e consequentemente, reduzindo os custos. Na presente seção serão abordados os estudos realizados com seis flocculantes distintos, os mesmos sendo classificados em aniônico, catiônico e noniônico.

Foram realizadas três etapas de floculação, sendo que em cada uma foi conduzida a avaliação de parâmetros essenciais tais como concentração de flocculantes e faixa de pH, para a etapa seguinte. Após a escolha do processo de melhor eficiência, foi realizada a floculação na escala semi piloto (40L).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AGENTES FLOCULANTES

Amostras de flocculantes utilizados no presente trabalho foram obtidas da empresa BASF, sendo os mesmos classificados em grupos como catiônicos, noniônicos e iônico. Dentre os flocculantes catiônicos utilizados encontram-se o ZETAG ® 7652, ZETAG ® 8165, ZETAG ® 8185 e o MAGNAFLOC ® LT 22. O aniônico utilizado foi o ZETAG ® 4120 e o noniônico foi MAGNAFLOC ® 351.

2.2 FLOCULAÇÃO PRELIMINAR

O teste preliminar de floculação foi executado com apenas um micro-organismo (*D. salina* SAG 184.80), em pH da cultura (pH 8,4) com a variação da concentração dos flocculantes. Para cada flocculante preparou-se uma solução estoque contendo 100 mL à uma concentração de 300 mg.L⁻¹ (ppm). Diferentes concentrações de flocculante foram (0 mg. L⁻¹ a 20 mg. L⁻¹).

Tubos de ensaio, contendo um volume total de suspensão celular de 10 mL foram empregados. O método de análise da eficiência da floculação foi realizado por meio da determinação da absorbância.

2.3 FLOCULAÇÃO – FASE 1

Nessa fase do estudo, avaliou-se a variação de pH e da concentração de floculante a fim de encontrar a condição ótima para o processo de floculação.

Dessa forma, para o controle do pH utilizou-se uma solução tampão citrato-fosfato. O tampão consiste em duas soluções, a primeira solução composta por 34 g de ácido cítrico diluído em 1000 mL. A segunda solução composta por 56 g de fosfato de sódio dibásico diluídas também em 1000 mL. Os pH das suspensões de microalgas foram ajustados previamente para 7,0 para que não houvessem alterações significativas quando da adição dos tampões.

Todos os floculantes foram preparados em soluções estoque de 100 mL com concentração de 300 ppm (300 mg. L⁻¹). Foram definidos os níveis do planejamento (TABELA 9) experimental do tipo fatorial completo 2², como mostrado na TABELA 10 com o suporte do Software Statistica versão 5.

Após a adição de todos os itens, os tubos foram agitados em vortéx de forma igualitária (1 minuto) e, posteriormente, deixados em repouso por 30 min sendo em seguida analisada a turbidez da região clarificada.

TABELA 9 - NÍVEIS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

| | -1 | 0 | 1 |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|
| pH | 3 | 5 | 7 |
| Concentração de floculante | 3 | 9,5 | 16 |

Fonte: o autor, 2015.

TABELA 10 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO FATORIAL COMPLETO 2².

| Ensaio | pH | Concentração de floculante |
|---------------|-----------|-----------------------------------|
| 1 | -1 | -1 |
| 2 | 1 | -1 |
| 3 | -1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 |
| 5 [c] | 0 | 0 |
| 6 [c] | 0 | 0 |
| 7 [c] | 0 | 0 |

FONTE: o autor, 2015.

2.4 FLOCULAÇÃO – FASE 2

Na execução da segunda fase do estudo dos flocculantes, foi observado o efeito do pH de acordo com as condições ótimas de cultivo de cada microalga estudada. A concentração de flocculante foi mantida nos mesmos limites (de 3 a 16 mg. L⁻¹).

Dessa forma, para o controle do pH utilizou-se soluções variadas. Essas totalizando cinco soluções para formar os tampões que variam de acordo com as culturas de *D. salina* e *N. oleoabundans*. As soluções utilizadas foram, 36,5 g de ácido clorídrico, 141,96 g de fosfato de sódio dibásico, 39,997 g de hidróxido de sódio, 60,05 g de ácido acético, 136,08 g de acetato de sódio, cada um dos sais foi diluído em 1000 mL apresentando concentrações de 1 M (DELLOYD'S, 2015; GOMORI, 1955).

Todos os flocculantes foram preparados em soluções estoque de 100 mL com concentração de 300 ppm (300 mg. L⁻¹). Foram definidos os níveis dos planejamentos experimentais, como mostrado na TABELAS 11 e 12. Nesses ensaios, não houve ajuste de pH das culturas antes da adição dos tampões, utilizando apenas o pH original da cultura.

Após a adição de todos os componentes, os tubos foram agitados em agitador do tipo vórtex durante 1 minuto e, posteriormente, deixados em repouso por 30 min sendo em seguida analisada a turbidez da região clarificada.

TABELA 11 - NÍVEIS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO FATORIAL COMPLETO 2² PARA *N. oleoabundans*.

| | -1 | 0 | 1 |
|------------------------------------|------|------|-------|
| pH | 6,00 | 8,00 | 10,00 |
| Concentração de Flocculante | 3,00 | 9,50 | 16,00 |

Fonte: o autor, 2015.

TABELA 12 - NÍVEIS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DO TIPO FATORIAL COMPLETO 2² PARA *D. salina*.

| | -1 | 0 | 1 |
|------------------------------------|------|------|-------|
| pH | 6,00 | 9,00 | 11,00 |
| Concentração de Flocculante | 3,00 | 9,50 | 16,00 |

Fonte: o autor, 2015.

Após a escolha do (s) melhor (es) flocculante (s), foi realizada a floculação em um tanque de 50 L com volume útil de 40 L. O *headspace* de 10 L é uma forma de

garantir que não haja transbordamento do material do tanque durante a agitação. A agitação foi realizada por meio da aeração promovida por um compressor, sendo injetado ar comprimido pela região inferior do tanque. A agitação foi realizada por 5 min após a adição do floculante. Foram adicionados 800 mL de floculante na concentração de 800 mg. L⁻¹ sendo a mistura deixada em repouso por 2 h.

Após a floculação, o material foi recuperado sendo determinados os valores de concentração mássica e celular para a realização do balanço de massa do processo.

2.5 CÁLCULO DE EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO

Para avaliar os processos de floculação foi realizado o cálculo da eficiência, sendo a razão da diferença entre a condição inicial e final pela condição inicial.

$$Eficiência (\%) = \frac{C_i - C_f}{C_i} \cdot 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde C_i é a condição inicial; e C_f é a condição final, ambas em NTU.

2.6 ESTUDO DO EFEITO DO pH SOBRE A FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS

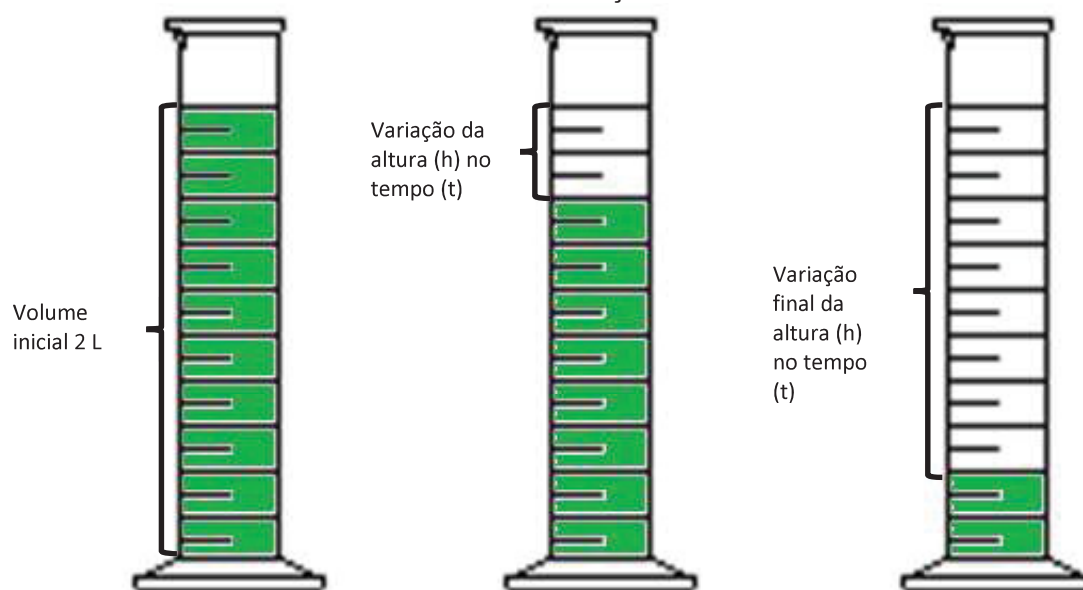
Com a observação da precipitação na cultura de *Dunaliella* salina, foi realizado o estudo da influência do pH. Apenas com a variação do pH observou-se as eficiências de floculação realizadas nas faixas de pH de 1 a 13 apenas com a cultura de microalga, a obtenção dos valores de pH foram obtidos pela adição de ácido clorídrico 4 M e hidróxido de sódio 4 M. Os testes foram extrapolados para a cultura de *Neochloris oleoabundans*.

2.7 DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO

A formação de um precipitado de células de microalga, que ocorria devido ao efeito do pH gerava uma interface visível a olho nú. Desse modo, a velocidade de sedimentação foi determinada para verificar a eficiência do processo.

A velocidade de sedimentação foi avaliada utilizando-se uma proveta de volume 2 L, e medindo-se a altura de líquido clarificado (h) conforme a FIGURA 17.

FIGURA 14 — ESQUEMA DO PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DA VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO



FONTE: o autor, 2016.

Com o valor da altura (h), a qual variava com o tempo (t), confeccionou-se um gráfico de altura (ordenada) e tempo (abscissa). A velocidade de sedimentação era então definida como a razão da altura de clarificado pelo tempo de sedimentação (t)

$$V_s = \frac{dh}{dt} \quad \text{Equação 5}$$

2.8 CURVA DE DOSAGEM DE FLOCULANTE

Após a avaliação dos resultados da otimização do processo de floculação, foi preparada uma curva que correlacionasse a melhor condição de pH com a concentração de floculantes. Utilizou-se apenas os floculantes Zetag® 8165 e Zetag® 8185, na concentração de 0 a 100 mg. L⁻¹.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 FLOCULAÇÃO PRELIMINAR

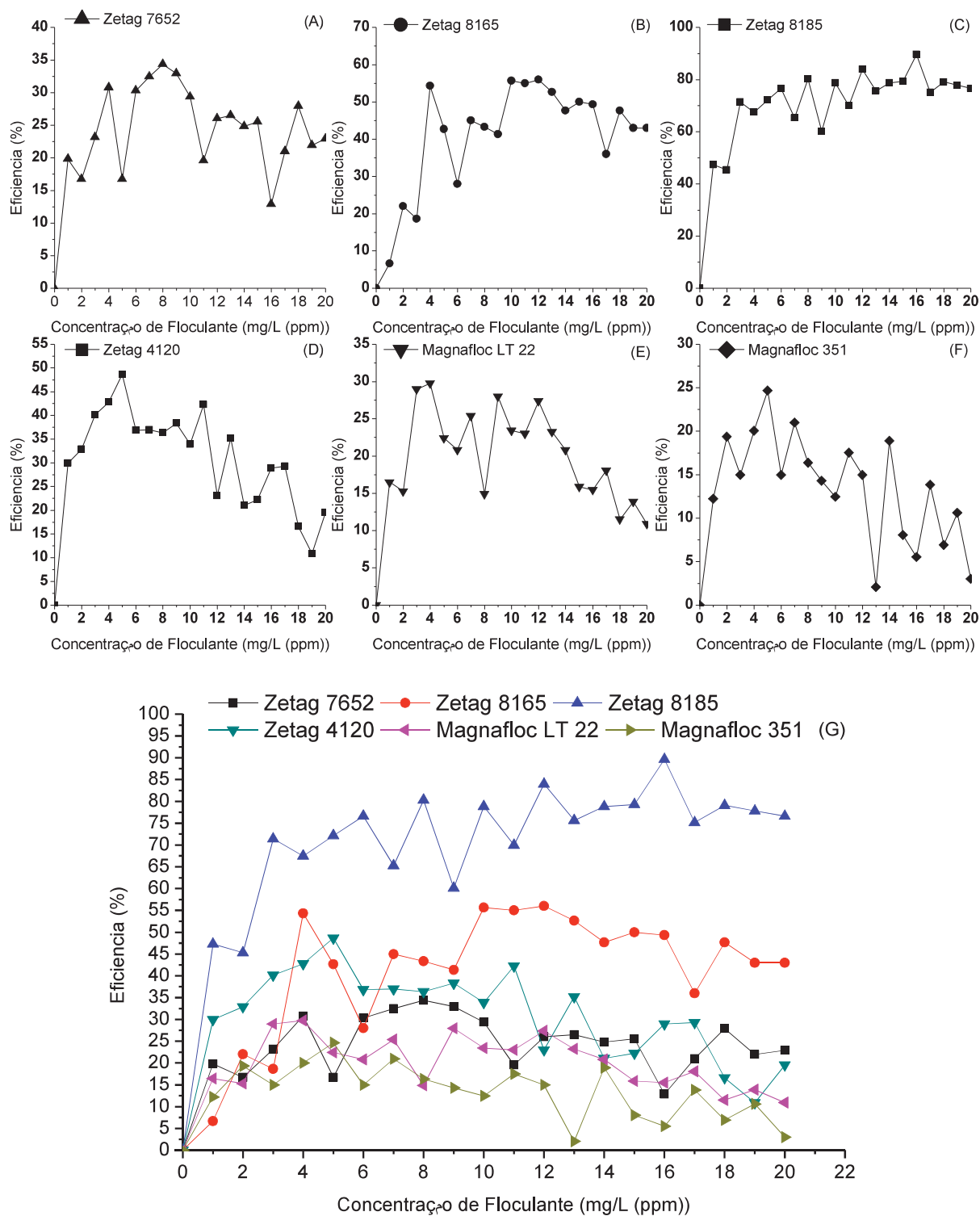
Os limites de concentração foram obtidos a partir de uma variação de concentração de 0 a 20 mg. L⁻¹ (ppm). Foi utilizada apenas a microalga *D. salina* devido à grande quantidade em volume disponível.

Os valores da eficiência foram obtidos a partir da absorbância inicial e da absorbância do clarificado apresentando os valores em porcentagem. Na figura 18, observa-se que as concentrações de 3 ppm à 16 ppm apresentam boa eficiência considerando acima de 40 %. A partir destes dados o planejamento foi realizado identificando os níveis de concentração.

Em todos os ensaios, a quantidade de 10 mL apresentou visualmente área de clarificado muito pequena possivelmente pela quantidade de volume que se escolheu trabalhar (10 mL). Em cada caso foi averiguado o pH que variou na faixa de 8,20 a 8,65.

Observando a FIGURA 15-C, o flocculante ZETAG ® 8185 apresentou os melhores valores de eficiência em condição de cultivo. A partir do limite mínimo de eficiência estipulado (40%), determinou-se que a concentração de 3 mg. L⁻¹ seria o limite inferior testado e a concentração de 16 mg. L⁻¹ sendo o limite superior para os próximos testes.

FIGURA 15 – INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FLOCULANTES SOBRE O PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA MICROALGA *Dunaliella salina*



FONTE: o autor, 2015

3.2 AVALIAÇÕES DAS CONDIÇÕES DE FLOCULAÇÃO

Testes ou ensaios de floculação foram realizados seguindo os planejamentos experimentais. Em todos os casos, foram gerados os diagramas de Pareto e as superfícies de resposta. Os diagramas de Pareto e gráficos de superfície de resposta encontram-se no apêndice A e B.

3.2.1 *Neochloris oleoabundans*

O estudo da floculação da microalga *Neochloris oleoabundans* foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa de floculação (TABELA 9 E 10) foi estudada a variação do pH, compreendendo a faixa ácida. Foi observado que nessa faixa apenas os floculantes Zetag® 4120 e o Magnafloc® 351 apresentaram efeito significativo do pH. Para os demais floculantes não foi observado efeito significativo ao nível de 95%, sendo que ambos apresentaram eficiência baixa (>12%) ou nula (caso do Magnafloc® 351) (FIGURA 16).

TABELA 13 - RESUMO DOS EFEITOS DOS TESTES DE FLOCULAÇÃO DE *Neochloris oleoabundans* - ETAPA 1.

| Floculação | | Fase 1 | | |
|------------------|-------------------|---------|--------------|-----------|
| Floculantes | Eficiência máxima | Efeitos | | |
| | | pH | Concentração | Interação |
| Zetag® 8165 | 22,15% | -2,3840 | 0,4550 | -0,1274 |
| Zetag® 8185 | 49,35% | -1,0894 | -0,4323 | -0,3372 |
| Zetag® 7652 | 41,92% | -3,1741 | -2,8930 | 2,1199 |
| Zetag® 4120 | 11,46% | -5,2142 | -1,5917 | 0,2744 |
| Magnafloc® LT 22 | 4,43% | -0,4479 | 0,3375 | -0,0675 |
| Magnafloc® 351 | -1,94% | -3,7984 | -0,2294 | -0,1784 |

FONTE: O AUTOR, 2016.

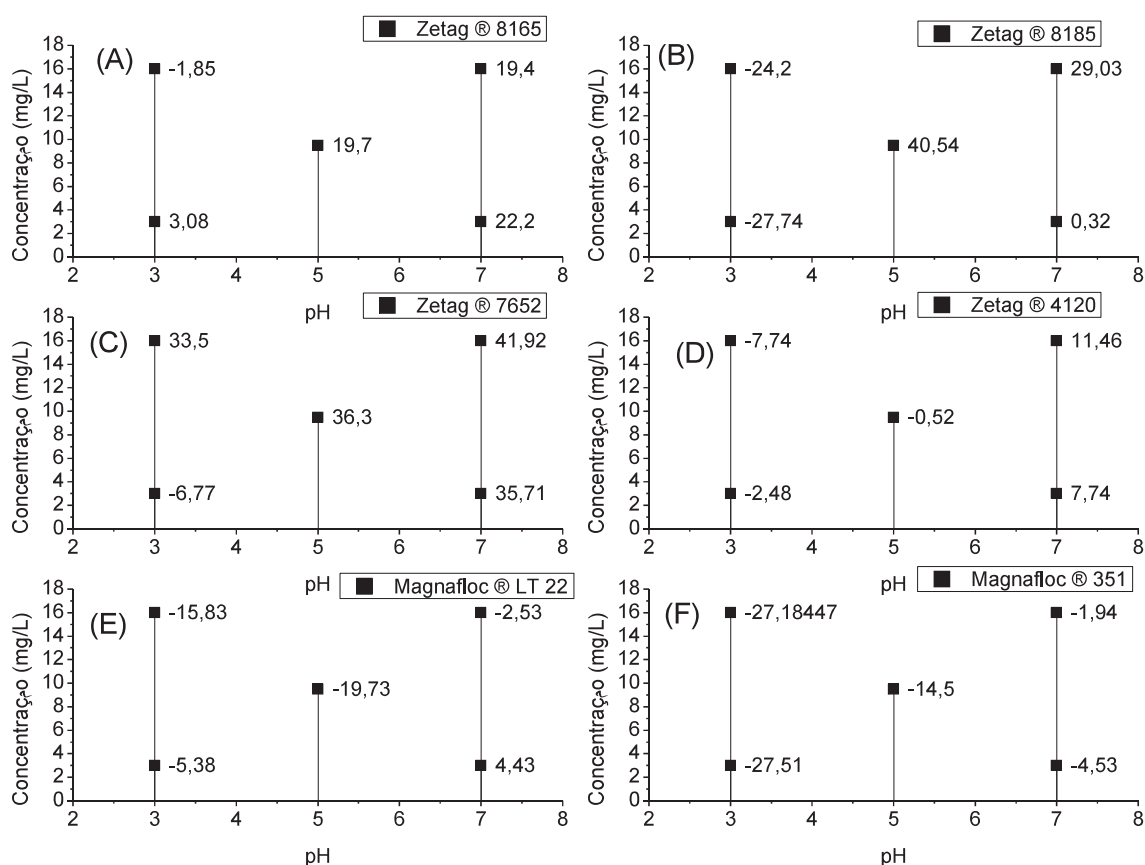
Nota: os valores em cinza correspondem aos efeitos que não apresentaram significância ao nível de 95%.

A TABELA 13 é resultante da compilação de todos os efeitos do estudo da influência dos floculantes testados em diferentes valores de pH e concentração. Os gráficos de superfície resposta também foram gerados, além do Diagrama de Pareto. Ambos (Pareto e superfície resposta) encontram-se no apêndice A.

Neste estudo, os floculantes que apresentaram melhor desempenho foram Zetag® 7652, Zetag® 8165 e Zetag® 8185 (FIGURA 16-C, A e B). O que apresentou a maior eficiência foi o Zetag® 8185 (FIGURA 16-B) com 49,35%.

Dentre os floculantes testados, houve eficiências baixa ou negativas. Este fato possivelmente deve-se às condições de acidez (pH 3 a 7) nas quais o processo foi realizado. Uma segunda hipótese pode ser levantada em relação à cadeia do polímero, a qual pode não haver interação com as células em suspensão, sendo inadequados.

FIGURA 16 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA ETAPA 1 DE FLOCULAÇÃO PARA *Neochloris oleoabundans*.



FONTE: O AUTOR, 2016.

NOTA: os valores indicados no gráfico são as eficiências (%) de cada floculante.

Os gráficos ilustrados na FIGURA 16, correspondem aos resultados do planejamento experimental. Os pontos ilustrados apresentam os valores de eficiência.

Os ensaios do planejamento experimental referente ao floculante Zetag® 8165 (FIGURA 16-A), na concentração de 16 mg. L⁻¹ apresentou eficiência negativa. Possivelmente, esse fenômeno é ocasionado pela alteração do meio, fazendo com

que as células flotassem, promovendo assim a eficiência nula. Pode-se imaginar uma diagonal secundária na FIGURA 16-A, onde os valores que estão abaixo desta apresentam eficiências positivas. A figura ilustra também uma tendência a uma melhor eficiência na região de pH básico.

O estudo com o floculante Zetag ® 8185 (FIGURA 16-B) mostrou que valores extremos de pH não levaram a eficiências aceitáveis (abaixo de 40%). Porém, o valor médio apresentou a melhor eficiência (40,54%) do ensaio, relacionando todos os floculantes. Já para o floculante Zetag ® 7652 (FIGURA 16-C), observou-se a segunda melhor eficiência (41,92%) do ensaio. As demais figuras não apresentaram eficiência aceitável, correspondendo a valores inferiores a 40%.

Posteriormente, em uma segunda fase, foi realizado novo experimento no qual se estudou a floculação em uma outra faixa de pH. Nessa nova faixa de pH, o experimento apresentou melhor respostas. As interações do pH e da concentração foram mais efetivas para todos os floculantes testados (TABELA 14).

TABELA 14 - RESUMO DOS TESTES DE FLOCULAÇÃO ETAPA 2 PARA *Neochloris oleoabundans*.

| Floculação | | Fase 2 | | |
|-------------------|-------------------|----------|--------------|-----------|
| Floculantes | Eficiência máxima | Efeitos | | |
| | | pH | Concentração | Interação |
| Zetag ® 8165 | 98,56% | 3,0289 | -2,7434 | 2,5769 |
| Zetag ® 8185 | 98,66% | 1,1432 | -6,3063 | 1,3144 |
| Zetag ® 7652 | 86,90% | 4,9148 | -4,7842 | 4,3925 |
| Zetag ® 4120 | 47,90% | -6,4304 | 0,0288 | -0,2019 |
| Magnafloc ® LT 22 | 49,40% | -20,6856 | 11,1384 | -8,1549 |
| Magnafloc ® 351 | 47,96% | -3,6420 | -0,7111 | 0,2255 |

FONTE: O AUTOR, 2016.

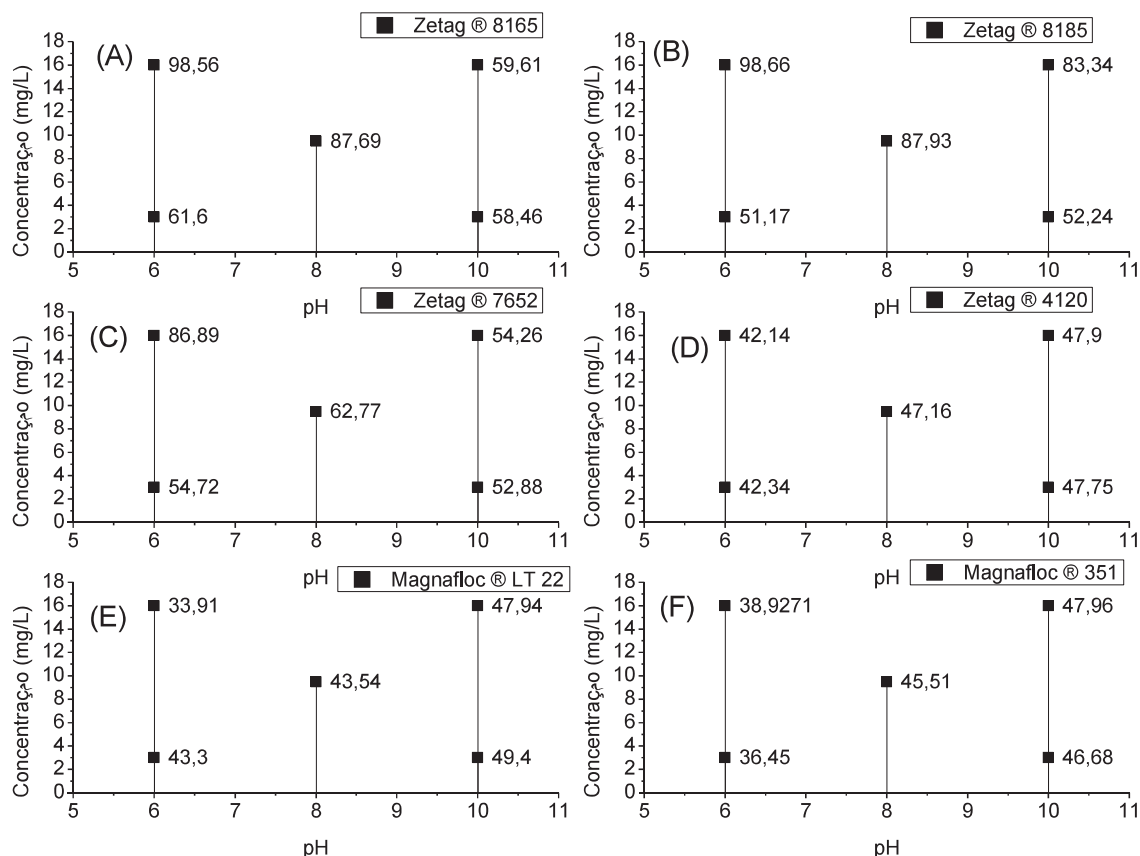
Nota: os valores em cinza correspondem aos efeitos que não apresentaram significância ao nível de 95%.

De modo geral, a influência do pH foi significativa para quase todos os floculantes, exceto para o Zetag ® 8185 (TABELA 14). Neste caso, houve influência significativa apenas da concentração do floculante, o que favorece o processo em escala piloto ou até mesmo industrial, já que não há a necessidade de realizar o ajuste do pH. O Zetag ® 8185 apresentou a melhor eficiência do processo acima de 99%.

Na FIGURA 17-A, pode-se observar que se forem excluídos o valor de eficiência obtido na condição de pH 10 e concentração 3, todos os valores acima apresentam eficiência superiores a 50%. Observa-se ainda, que há uma tendência a

concentrações maiores e pH mais neutros. As mesmas afirmações podem ser feitas ao floculante Zetag ® 8185 (FIGURA 17-B).

FIGURA 17 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA CORRIDA FLOCULAÇÃO 2 PARA *Neochloris oleoabundans*.



FONTE: o autor, 2016.

Nota: os valores indicados no gráfico são as eficiências (%) de cada floculante.

O terceiro melhor floculante foi o Zetag ® 7652 (FIGURA 17-C), apresentando melhor eficiências acima de 80%. Analisando a ilustração da FIGURA 17-C, quanto mais básico o meio, maior será a concentração de floculante necessária para se obter melhores eficiências.

Para o floculante Zetag ® 4120 (FIGURA 17-D) os valores de eficiência variaram entre 40 e 48%, não indicando influência significativa da concentração do floculante e do pH. Os demais floculantes testados apresentaram eficiência que variaram entre 33 e 49%, alguns apresentaram tendências a eficiências maiores em mais altas concentrações de floculante e pH mais básicos.

3.2.2 *Dunaliella salina*

O estudo da floculação da microalga *Dunaliella salina* foi realizado em duas etapas do mesmo modo que o anterior. Na etapa 1 de floculação (TABELA 15) foi realizada a variação do pH, compreendendo a faixa ácida.

Os flocculantes Zetag ® 7652 e Zetag ® 4120 não apresentaram significância ao nível de 95% em nenhum dos fatores avaliados. No entanto, os demais apresentaram significância em alguma ou em todos os fatores avaliados, como no caso do Zetag ® 8185.

TABELA 15 - RESUMO DOS TESTES DE FLOCULAÇÃO ETAPA 1 PARA *Dunaliella salina*.

| Floculação | | Fase 1 | | |
|-------------------|-------------------|---------|--------------|-----------|
| Floculantes | Eficiência máxima | Efeitos | | |
| | | pH | Concentração | Interação |
| Zetag ® 8165 | 82,29% | -2,95 | -6,62 | 4,00 |
| Zetag ® 8185 | 92,94% | -11,27 | -10,46 | 3,92 |
| Zetag ® 7652 | 60,31% | -2,19 | -0,66 | 0,60 |
| Zetag ® 4120 | 11,16% | 1,55 | -1,33 | -1,29 |
| Magnafloc ® LT 22 | 64,03% | -12,07 | -3,15 | -0,38 |
| Magnafloc ® 351 | 40,56% | 0,25 | 1,44 | 1,33 |

FONTE: o autor, 2016.

Nota: os valores em cinza correspondem aos efeitos que não apresentaram significância ao nível de 95%.

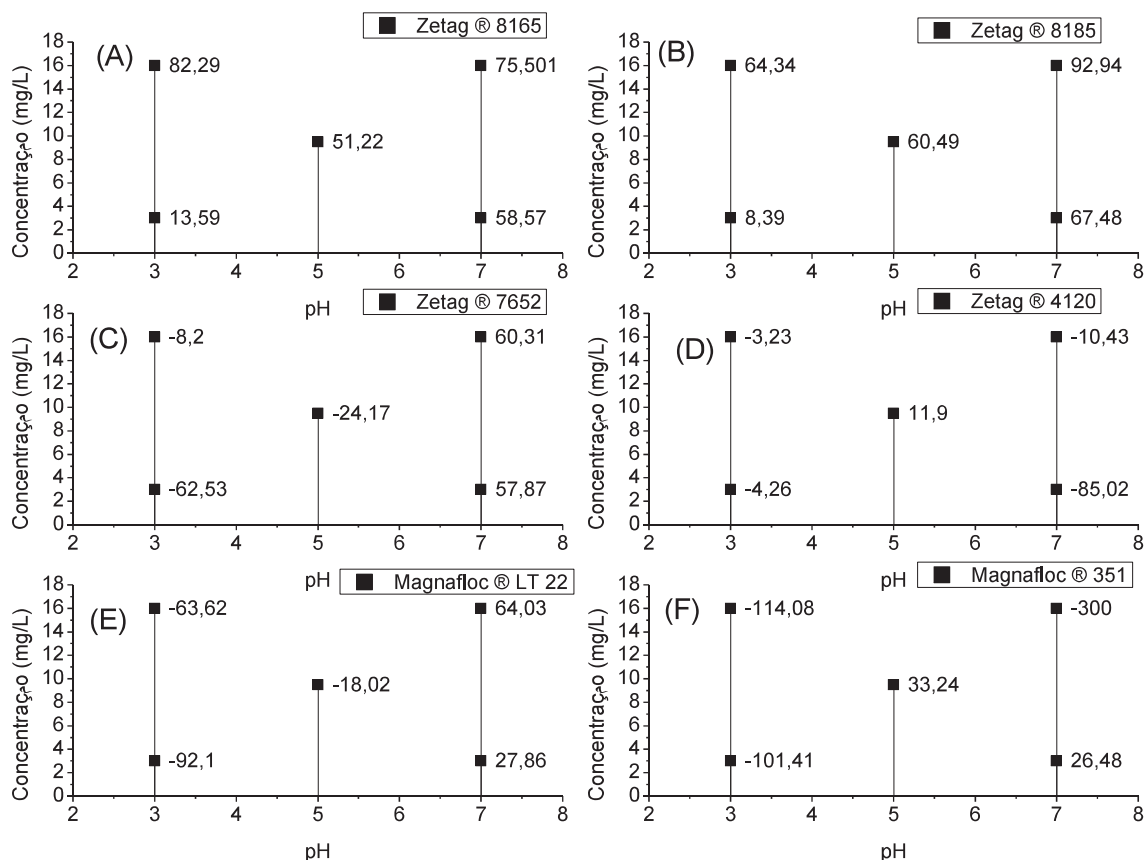
Como pode ser observado na FIGURA 18, considerando um valor mínimo aceitável de eficiência, fixado em 40%, apenas o flocculante Zetag ® 4120 (FIGURA 18-D) não foi satisfatório. Dentre os flocculantes de baixa eficiência, o Magnafloc ® 351 (FIGURA 18-F) apresentou eficiência. O Zetag ® 8165 e o Zetag ® 8185 (FIGURA 18-A e B) se destacaram com eficiências maiores do que 80%.

Pode-se observar também, que alguns dos flocculantes apresentam eficiência negativa, isso é devido a alteração do pH ajustado com tampão citrato-fosfato (GOMORI, 1955). É sabido que o meio para *Dunaliella salina* apresenta altas concentrações de sais, uma vez que, o meio baseia-se em água do mar artificial. Dessa forma, quando houve o controle de pH através do tamponamento deslocou o equilíbrio tornando possível a precipitação (como por exemplo os sais de fosfato).

As adições foram feitas simulando um processo industrial, na qual cada componente foi adicionado separadamente. Na adição das soluções de fosfato houve

o turvamento (possível precipitação), em seguida a adição do ácido cítrico foi observado a redução do turvamento, a qual retornava à condição original.

Figura 18 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA CORRIDA FLOCULAÇÃO 1 PARA *Dunaliella* salina.



FONTE: O AUTOR, 2016.

Nota: os valores indicados no gráfico são as eficiências (%) de cada floculante

O floculante Zetag ® 8185 (FIGURA 18-B), apresenta eficiência máxima acima de 90%. Observa-se eficiência moderada com alta concentração de floculante, ou com concentrações mais baixas, mas pH alto. As observações apresentadas na TABELA 15 para o floculante validam a influência do pH e da concentração. Abaixo da diagonal principal, todos os valores de eficiência são pH dependentes, sendo que acima da diagonal principal a concentração de floculante é o fator que dita a eficiência.

Durante os experimentos, pôde-se observar que, mesmo se a eficiência de alguns floculantes fossem satisfatórias, a velocidade de sedimentação era baixa (2 cm.h^{-1}), o que torna o processo inviável para a escala ampliada.

Posteriormente, foi realizado novo experimento onde se estudou a floculação em uma outra faixa de pH. A faixa adotada era de 6 a 11, faixa que compreende o pH da cultura, ou seja, por volta de 8,5. Porém, foram observadas novamente precipitações devido provavelmente ao pH. Nos parâmetros avaliados foi possível observar, em todos os casos, que o pH apresentava maior influência (TABELA 16).

TABELA 16 - RESUMO DAS CORRIDAS DO EXPERIMENTO DE FLOCULAÇÃO PRELIMINAR 2 PARA *Dunaliella salina*.

| Floculação | | Fase 2 | | |
|-------------------|-------------------|---------|--------------|-----------|
| Floculantes | Eficiência máxima | Efeitos | | |
| | | pH | Concentração | Interação |
| Zetag ® 8165 | 52,07% | 2,84 | -0,12 | -0,13 |
| Zetag ® 8185 | 53,13% | 10,67 | -0,33 | -0,34 |
| Zetag ® 7652 | 43,69% | 8,03 | 0,15 | 0,16 |
| Zetag ® 4120 | 63,99% | 11,16 | -0,27 | -0,25 |
| Magnafloc ® LT 22 | 34,17% | 32,88 | -0,21 | -0,23 |
| Magnafloc ® 351 | 41,32% | 28,54 | 1,60 | 1,57 |

FONTE: O AUTOR, 2016.

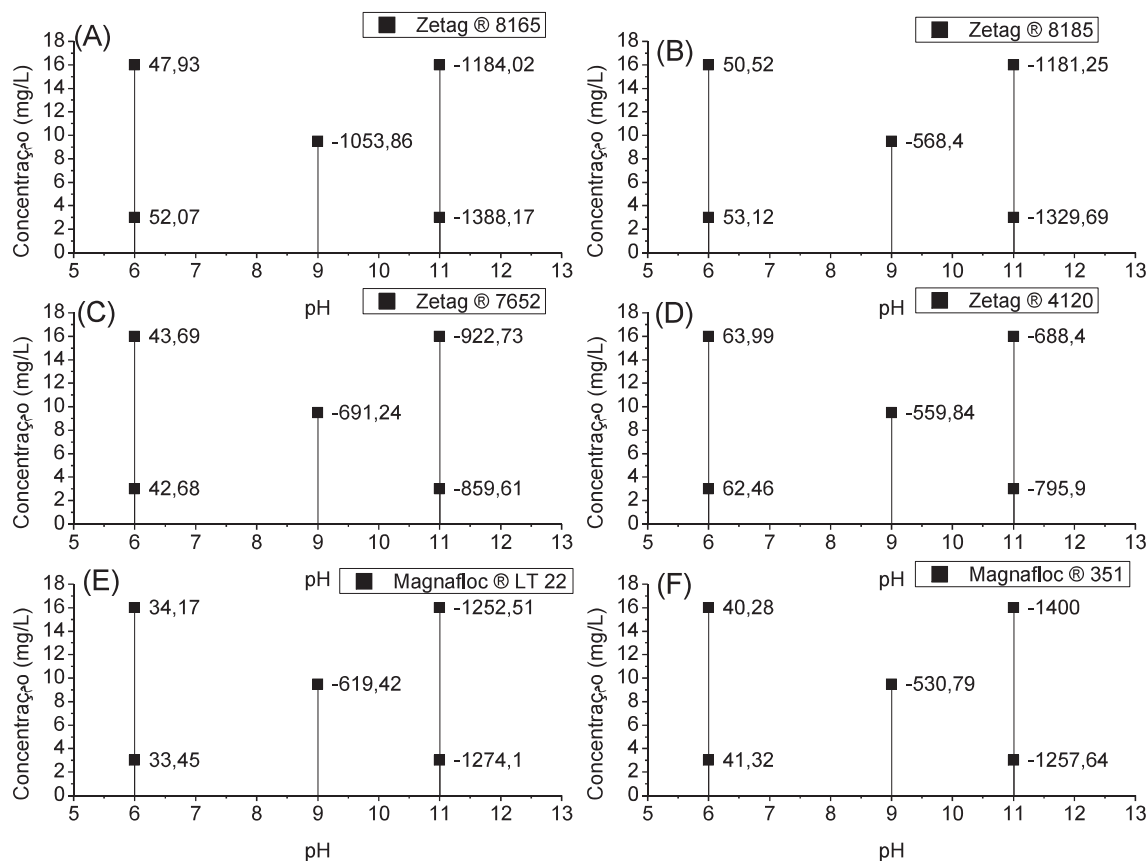
Nota: os valores em cinza correspondem aos efeitos que não apresentaram significância ao nível de 95%.

De modo geral, apenas o pH apresentou efeito significativo acima de 95% como pode-se observar na TABELA 16. Embora as eficiências alcançaram valores acima de 60%, esses valores correspondem a faixa neutra de pH estudada.

Avaliando os ensaios, observa-se que um meio de maior alcalinidade apresenta menor eficiência quando comparada com um meio de pH inferior. O ponto intermediário (FIGURA 19) compreendendo o pH 9, indica precipitação de forma moderada.

Com as observações realizadas no processo de floculação para a microalga *D. salina*, a fim de averiguar a influência da célula, realizou-se uma determinação de branco, correspondendo ao meio sem as células. Assim, coletou-se uma amostra de microalga e centrifugou-se (15 min, 4000 rpm) a fim de concentrar as células. Assim, obteve-se o meio sem a presença das células. Em seguida, foram realizados os mesmos testes, comparando as amostras com e sem microalga e foi possível confirmar que o efeito de turbidez devido ao meio.

FIGURA 19 – EFICIÊNCIAS DOS FLOCULANTES NA CORRIDA FLOCULAÇÃO 2 PARA *Dunaliella salina*.



FONTE: o autor, 2016.

NOTA: os valores indicados no gráfico são as eficiências (%) de cada flocculante

De modo simplificado, as células de *D. salina* tendem a precipitar o que contribui para o aumento da turbidez, o que torna o processo menos eficiente.

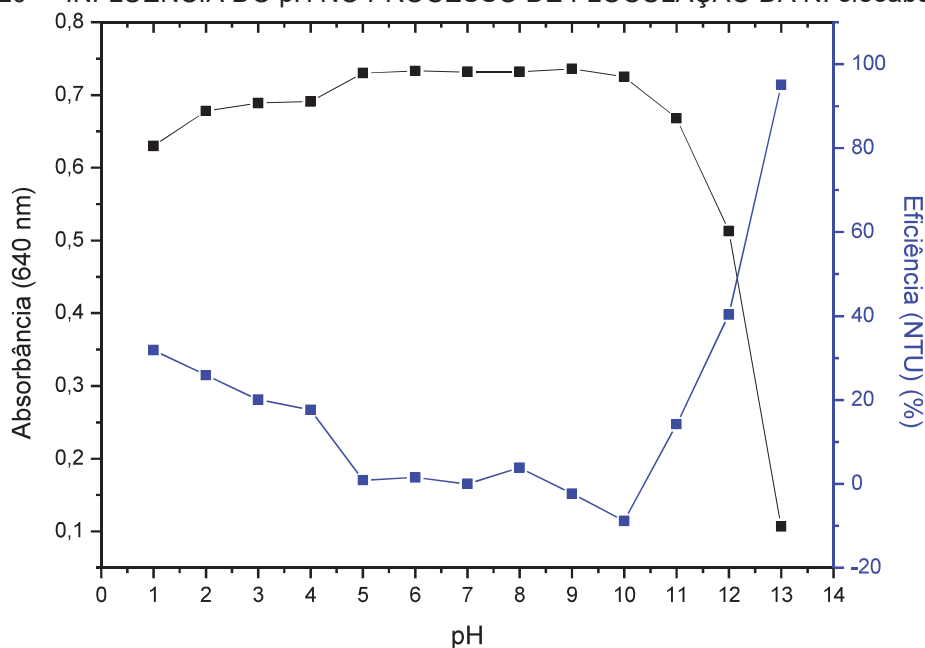
3.3 ESTUDO DO EFEITO DO pH SOBRE AS MICROALGAS INDUZINDO A AUTOFLOCULAÇÃO

Devido às precipitações ocorridas anteriormente, decidiu-se verificar a influência isolada do pH na redução da turbidez. Assim, foram feitas curvas para ambos os micro-organismos estudados neste trabalho.

3.3.1 *Neochloris oleoabundans*

Analizando os fatores que influenciam a floculação da microalga *N. oleoabundans*, foi estudado o efeito isolado do pH (FIGURA 20). Observou-se que o pH ácido promove baixa eficiência de floculação. A mesma denota degradação da biomassa, pela alteração da coloração da amostra (FIGURA 21).

Figura 20 — INFLUÊNCIA DO pH NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA *N. oleoabundans*.

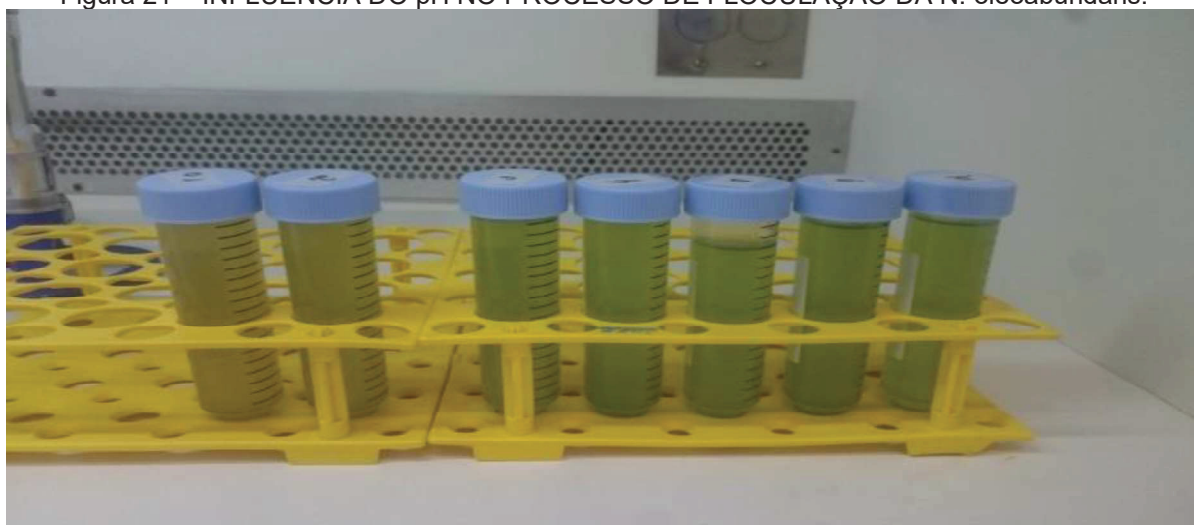


FONTE: O AUTOR, 2015.

Observando a FIGURA 20, é possível verificar a influência do pH na recuperação da biomassa de *N. oleoabundans*, visto que em pH's na faixa ácida apresenta eficiência que variaram de 0 a 35% embora essa faixa acarreta possíveis danos a biomassa, tornando-a escura como observado na FIGURA 21. A faixa neutra não apresentou eficiência. Já a faixa alcalina, acima de pH 10 apresentam eficiências alcançando valores maiores a 90%.

Pode-se observar que é possível flocular a *N. oleoabundans* com a alteração do pH em faixas extremas, embora isso possa causar algum dano a célula.

Figura 21 – INFLUÊNCIA DO pH NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA *N. oleoabundans*.

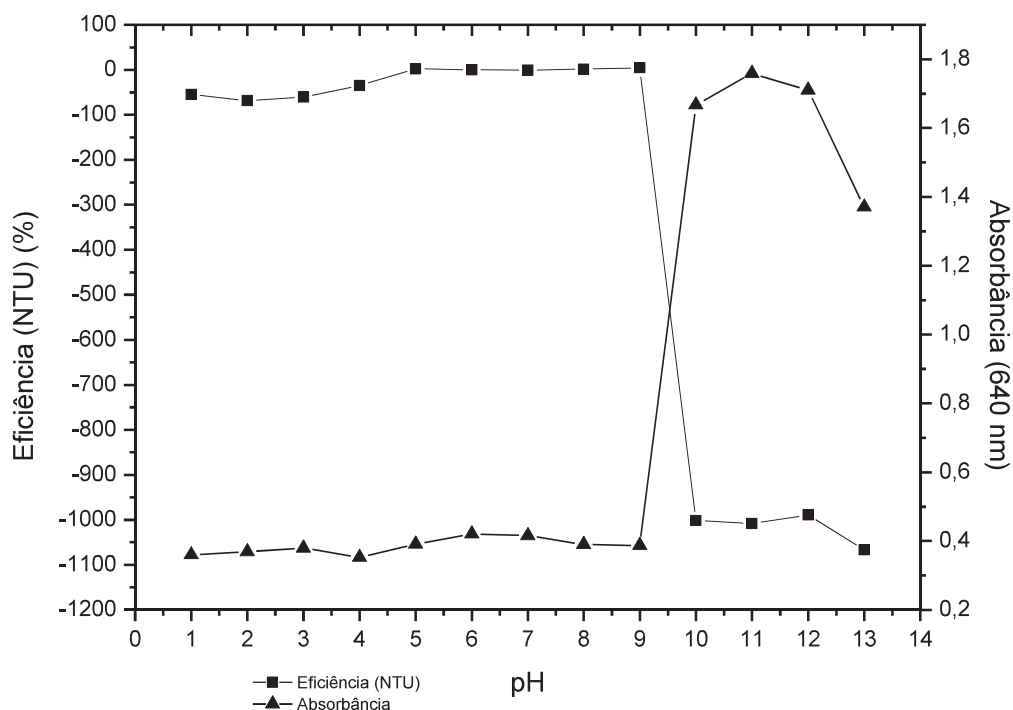


FONTE O AUTOR, 2016.

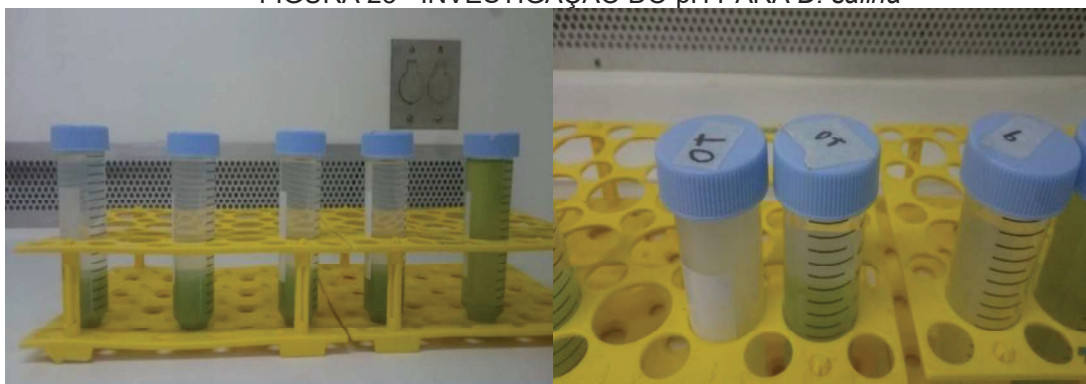
3.3.2 *Dunaliella salina*

O estudo da influência do pH para a *D. salina*, foi observado que a faixa de acidez e neutralidade apresenta maior eficiência de 4% (FIGURA 22), o que indica ineficiência do processo de floculação apenas com a adição de base e ácido. A faixa básica apresentou valores negativos de eficiência. Esses efeitos são devidos as precipitações, as quais formam duas fases distintas (fase de sedimentando e fase de clarificado) alcançando valores acima de 99% de remoção de células. A curva de absorbância em 640 nm indica que com a alteração do pH para a faixa alcalina a formação de precipitado, e assim aumentando os valores de absorbâncias.

A FIGURA 23 ilustra a precipitação e o arraste das células pelo material precipitado. Foi observado que pH's básicos apresentam altíssimas eficiências (acima de 99%), entretanto, há precipitação (FIGURA 22) e essa seria uma melhor forma de recuperar a biomassa

FIGURA 22 – INFLUÊNCIA DO PH NO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO DA *D. salina*.

FONTE: o autor, 2015

FIGURA 23 - INVESTIGAÇÃO DO pH PARA *D. salina*

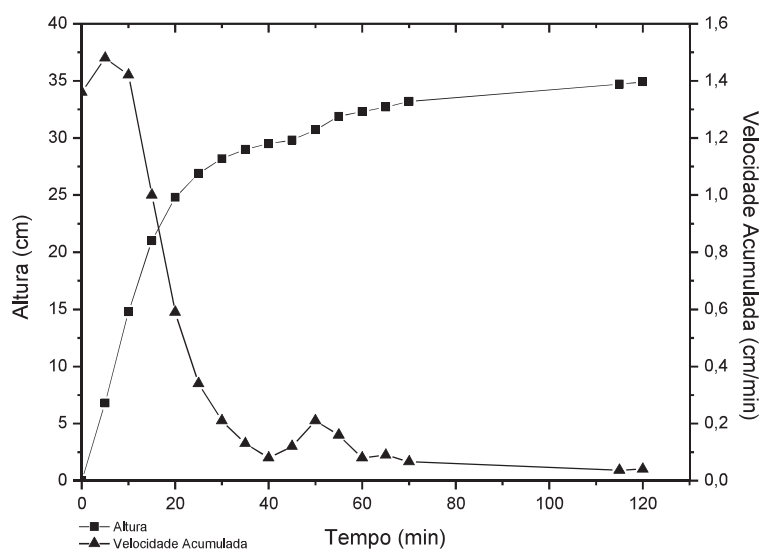
FONTE: O AUTOR, 2015

Com a constatação de um aumento extremo da eficiência, foi realizado a centrifugação da cultura estudada sem a adição de qualquer material, a fim de observar os efeitos no meio de cultura, sem a influência das células (FIGURA 23 A DIREITA). Pôde-se constatar que com o ajuste acima do pH de 10, os sais do meio precipitavam e aumentavam, por conseguinte, a turbidez do meio, o que proporcionou um resultado adequado para analisar o processo de floculação da microalga de estudo.

O material precipitado é oriundo das grandes quantidades de sais presentes no meio devido o acréscimo dos sais do tampão fosfato. Observou-se também, que com

a adição de ácido, o precipitado novamente se solubilizava. Com a formação do precipitado, estudou-se a velocidade de sedimentação nos pH's 10, 11, 12 e 13. Dentre os pH estudados apenas o pH 10 apresentou alta velocidade inicial, e em um tempo estipulado de 30 min apresentou eficiência considerável.

FIGURA 24 – VELOCIDADE DE SEDIMENTAÇÃO DA *D. salina*.



FONTE: o autor, 2015.

Observando a FIGURA 24, há alta eficiência de recuperação (acima de 99%). Uma das hipóteses seria que, com a formação do precipitado, haja maior interação com as células da microalga, uma vez que, as mesmas apresentam carga. Durante a adição da base, acima de pH 10 há formação dos precipitados (possivelmente fosfato) faz com que a eletronegatividade do oxigênio possa produzir uma ligação de hidrogênio, fazendo com que as células sejam arrastadas e assim floculando. A recuperação possível seria a lavagem do material por um ácido, o que ressolubilizar os sais precipitados (BRADY; POHL; HEWSON, 2014).

Outro ponto importante, é a velocidade com que há o aumento da área acumulada. Para o pH 10 o processo ocorreu nos primeiros 20 min com velocidade alta. Para os demais pH testados não há velocidade aceitáveis para utilização do processo, apesar de apresentar eficiência superior.

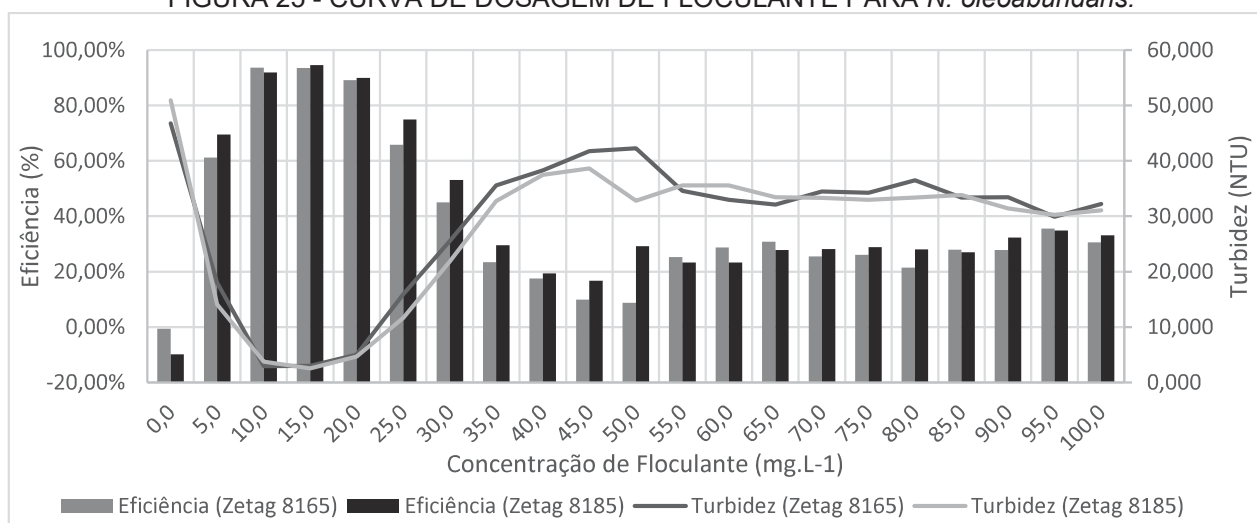
Na FIGURA 24 é observado que nos primeiros 20 minutos a velocidade de sedimentação foi de $1,24 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ sendo uma velocidade alta para o processo. Com o passar do tempo a velocidade tende a estabilizar-se, fenômeno observado a partir

de 40 min com velocidade de $0,123 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. De modo simplificado, a velocidade média do processo foi de $0,4743 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$.

3.4 CURVA DE DOSAGEM DE FLOCULANTE

O levantamento da curva de dosagem foi feito para verificar em qual concentração de floculante haveria melhor eficiência. Durante o planejamento da curva escolheu-se a melhor condição de pH dos planejamentos (pH 6). O pH foi ajustado com a adição de 0,3 mL de ácido acético e 4,7 mL de acetato de sódio, e em seguida variando as concentrações de 0 a $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, a mesmo sendo variada ao passo de $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Além de confirmação, outro objetivo do levantamento é para escolha da menor dosagem para o futuro uso na indústria, reduzindo o custo do processo.

FIGURA 25 - CURVA DE DOSAGEM DE FLOCULANTE PARA *N. oleoabundans*.



FONTE: o autor, 2015.

Analisando a FIGURA 25, pode-se observar que a concentração máxima seria entre 10 e $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e após há um decaimento das eficiências com o aumento da dosagem. O decaimento das eficiências é possivelmente atribuído a relação floculante/celular (solido em suspensão). Devido a disponibilidade maior de floculante, há uma maior formação de microflocos, fazendo com que a taxa de formação destes seja maior, assim atuando como estabilizante, o que se torna inviável do ponto de vista de recuperação, visto que quanto maior a adição de floculante maior será

agregado custo à recuperação. Dessa forma, as concentrações entre 10 a 20 mg. L⁻¹ são indicadas de forma que o custo benefício do processo seja maximizado.

Observou-se que para a microalga *N. oleoabundans* (FIGURA 25), o flocculante Zetag ® 8185 teve as melhores eficiências quando comparado com o Zetag ® 8165. Embora ambos apresentam eficiência significativa acima de 90%.

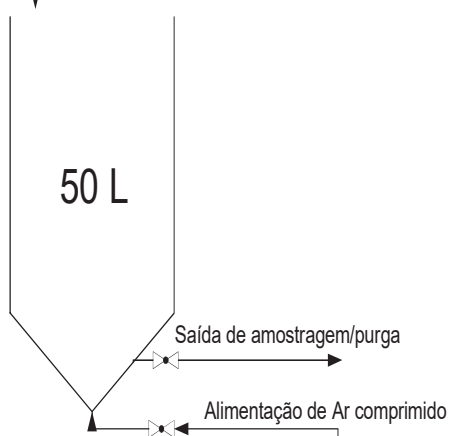
3.5 FLOCULAÇÃO EM ESCALA SEMI PILOTO

Com os problemas de floculação observados para a microalga *Dunaliella salina*, decidiu-se trabalhar apenas com a *Neochloris oleoabundans*.

A floculação em escala piloto (50 L), foi realizada como esquematizado na FIGURA 26. Nessa etapa o pH foi ajustado e aplicação dos dois flocculantes, ZETAG ® 8185 e ZETAG ® 8165. Ambos demonstraram melhor desempenho no processo de floculação descritos anteriormente.

FIGURA 26 - ESQUEMA DO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO EM ESCALA SEMI PILOTO

Floculante: 800 mL
Concentração: 800 mg/L



FONTE: o autor, 2016.

Após a recuperação do material, realizou-se a assepsia do tanque com hipoclorito de sódio (1% v/v).

O flocculante ZETAG ® 8165 foi testado sem a alteração do pH, e após 2 h apresentando eficiência de 75,3 %, embora já era possível observar eficiência após 20 min. A decisão de realizar o teste sem essa variável foi devido perspectiva de aplicação industrial. Essa alteração implicaria em custos adicionais ao processo de

recuperação, assim decidiu-se fazer uma nova tentativa com volumes maiores e avaliar o desempenho. A TABELA 17, encontra-se o processo de balanço de massa do processo.

TABELA 17 BALANÇO DE MASSA DO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO COM O ZETAG® 8165

| Estágios | Volume | Concentração | Massa Estimada |
|----------|--------|--------------|----------------|
| | L | g/L | g |
| Inicial | 48,00 | 0,37 | 17,76 |
| Superior | 5,32 | 0,27 | 1,44 |
| Médio | 40,38* | 0,05 | 2,03 |
| Inferior | 2,00 | 5,97 | 11,94 |
| Perdas | 0,30 | 7,83 | 2,35 |

FONTE: o autor, 2016.

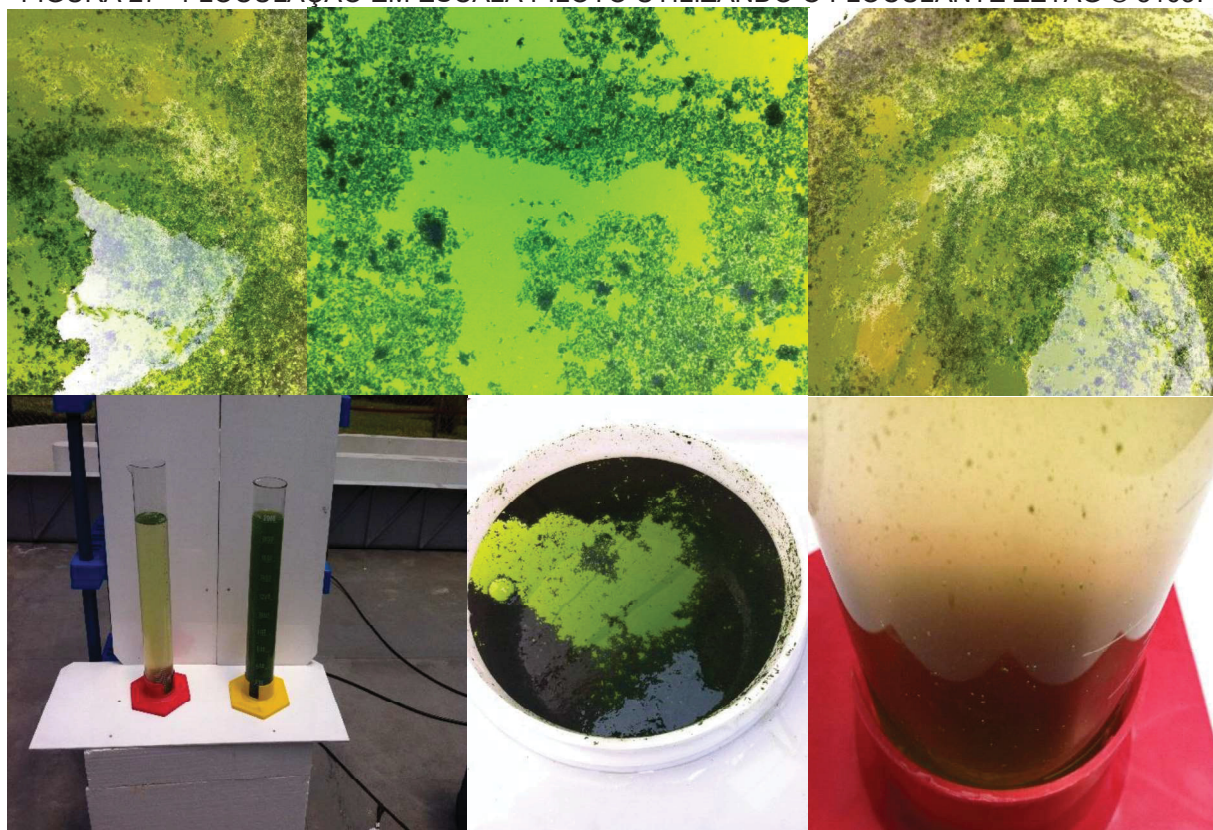
Nota: (*) calculado por diferença

Como pode ser observado na Tabela 17 acima, foram considerados quatro frações de material floculado, as frações superior, média e inferior correspondem ao processo final (material floculado).

A massa “perdida” de células, de 2,35 g, corresponde aos materiais aderidos nas paredes do tanque e pelo derramamento devido à alta intensidade da agitação. Para maiores volumes a perda em superfícies deve ser proporcionalmente menor. Cerca de 15,41 g foram recuperados nas 3 fases líquidas, o que corresponde a uma recuperação de 87%; com a concentração final de 5,97 g.L⁻¹, o fator de concentração no processo foi de 16 vezes. Isso corresponde a uma importante redução de volume com o processo de floculação, seguido de sedimentação.

A fração superior corresponde a todo material flotado, assim formando uma camada de material na parte superior. O estágio médio, seria uma região intermediária que apresentava coloração verde, o que indica quantidade de biomassa ainda em suspensão. E por fim, a fração inferior, correspondendo parte de material decantado. A fração superior está ilustrada na FIGURA 27.

FIGURA 27 - FLOCULAÇÃO EM ESCALA PILOTO UTILIZANDO O FLOCULANTE ZETAG ® 8165.



FONTE: o autor, 2016.

O próximo teste foi realizado com o floculantes Zetag ® 8185, nas mesmas condições que o anterior. Como é possível observar na TABELA 18, o processo foi mais eficiente, visto que, o material clarificado apresentou valores muito pequenos de concentração e massa total que pode ser considerado nulos.

TABELA 18 - BALANÇO DE MASSA DO PROCESSO DE FLOCULAÇÃO COM O ZETAG ® 8185

| Estágios | Volume | Concentração | Massa Estimada |
|---------------------|--------|-------------------|----------------|
| | L | g.L ⁻¹ | g |
| Inicial | 40 | 0,7 | 28 |
| Recuperado | 1,5 | 10,2 | 15,3 |
| Clarificado | 36,5 | 0 | 0 |
| Material de Lavagem | 2 | 6,35 | 12,7 |

FONTE: O AUTOR, 2016.

O material de lavagem dito na TABELA 18 é referente ao processo pós floculação durante a recuperação do material do tanque. Uma quantidade considerável de biomassa ficou aderida à parede do tanque. O material foi então

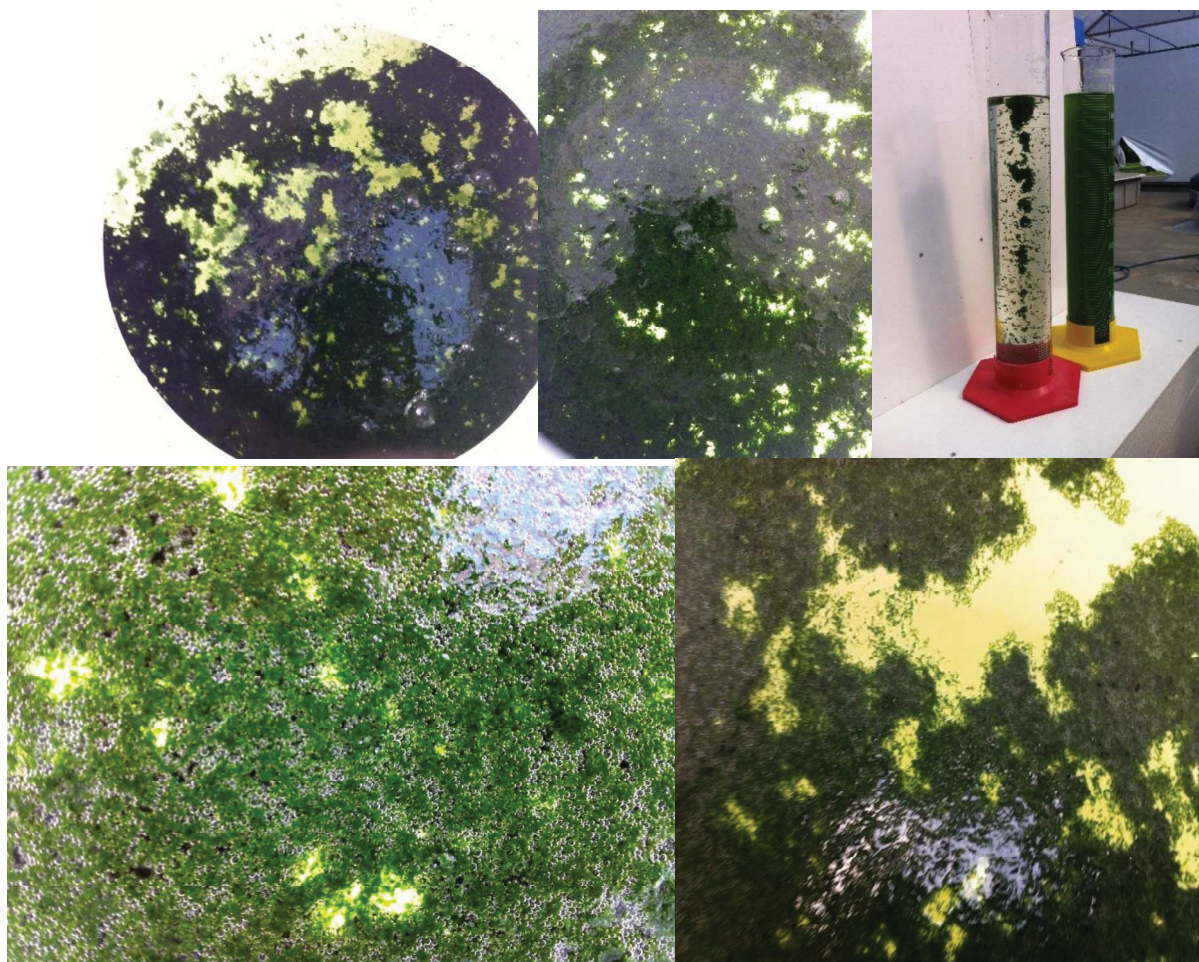
recuperado utilizando uma espátula e a raspagem das paredes. Esse material foi incorporado ao volume de recuperado e ao restante do material, foi adicionado 2 L de material clarificado e feito a lavagem do tanque. O material foi recuperado, porém esse material estava diluído quando comparada com a fração de recuperado.

Um fator importante na floculação com o Zetag ® 8185 foi que todo o material flutou. Assim, a recuperação do material clarificado foi facilitada. Foi observado que a temperatura da estufa onde estavam sendo realizados os testes apresentava temperatura acima de 35°C, o que facilitou a formação de bolhas (FIGURA 28) devido à liberação dos gases dissolvidos, facilitando a flotação dos flocos.

Para verificar a influência da temperatura na flotação ou decantação do material, foi realizado em proveta em uma sala com temperatura controlada a 20°C o mesmo ensaio. Verificou-se que o material em sua maioria decantava e a qualidade visual da floculação foi inferior. Assim, pode-se afirmar que temperaturas acima de 35°C melhoram o processo de retirada de material pós floculação.

De modo geral o floculante Zetag ® 8185 apresentou eficiência acima de 99%, com fator de concentração e 14 vezes. O que reduz o volume a ser processado posteriormente em 14 vezes, gerando assim, a redução dos custos de recuperação da biomassa.

FIGURA 28 - FLOCULAÇÃO EM ESCALA PILOTO UTILIZANDO O FLOCULANTE ZETAG ® 8185.



FONTE: O AUTOR, 2016

CONCLUSÃO

O cultivo foi realizado com os micro-organismos, *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 e *Dunaliella salina* SAG 184.80. Ambos foram cultivados em escala laboratorial e semi piloto. A *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 apresentou baixa concentração celular em escala semi piloto (0,467 g/L) quando comparada com o cultivo realizada em escala de bancada (2,28 g.L⁻¹). No entanto a *Dunaliella salina* SAG 184.80 apresenta melhor concentração celular no cultivo externo (4,72E+06 cel. mL⁻¹) quando comparado com o cultivo interno (1,11E+06 cel. mL⁻¹). No entanto, a produtividade em escala de bancada foi maior (6,35E+04 cel. mL⁻¹. d⁻¹) em relação a em escala semi piloto (5,65E+04 cel. mL⁻¹. d⁻¹).

Os testes de floculação apresentaram que a *Dunaliella salina* SAG 184.80 apresenta dificuldades para a recuperação devido a seu meio altamente salino o que impossibilitou a otimização das condições de floculação. No entanto, a *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 apresentou facilidade na floculação em condições neutra de pH apresentando eficiência acima de 99%. Sendo a mais eficiente sem influência do pH. O melhor floculante foi o Zetag ® 8185 na concentração de 16 mg. L⁻¹.

REFERÊNCIAS

- ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. et al. Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. **Chemical Engineering Science**, v. 56, n. 8, p. 2721–2732, abr. 2001.
- ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M.; MOLINA GRIMA, E. Photobioreactors for the production of microalgae. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 131–151, 8 jan. 2013.
- ALGAEMAX. **Algaemax addresses the needs of sme microalgae producers by developing and demonstrating an innovative technology to concentrate microalgae suspensions, whilst preserving quality, with significantly reduced capital investment and energy costs.** Disponível em: <<http://www.algaemax.eu/more-in-detail.html>>. Acesso em: 13 jan. 2016.
- ASTM, I. ASTM D3977-97 - Standard Test Methods for Determining Sediment Concentration in Water Samples. v. 90, n. Reapproved 2013, p. 1–7, 2013.
- ASTM, I. **ASTM D6855-12: standard Test Method for Determination of Turbidity Below 5 NTU in Static Mode**, 2016.
- AYOUB, G. M.; LEE, S.-I.; KOOPMAN, B. Seawater induced algal flocculation. **Water Research**, v. 20, n. 10, p. 1265–1271, 1986.
- BAKPAI, K.; PROKOP, A.; ZAPPI, M. **Algal Biorefineries : Cultivations Of Cell And Production**. New York, NY: Science Publishers, 2014. v. 1
- BASF, C. **Zetag ® 8165 Safety Data Sheet**. NJ, 2013a.
- BASF, C. **Zetag ® 8185 Safety Data Sheet**. Mexico, 2013b.
- BASF, C. **Magnafloc ® LT22 Technical Information - Water Solution**, 2013c.
- BASF, C. **Magnafloc ® 351 Technical Information - Global Mining Solutions**, 2013d.
- BASF, C. **Zetag ® 7652 Safety Data Sheet**. NJ, 2015.
- BEACH, E. S. et al. Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*. **Bioresource Technology**, v. 121, p. 445–449, 2012.
- BELLINGER, E. G.; SIGEE, D. C. **Freshwater Algae: Identification and use as Bioindicators**. 1st. ed. Oxford, UK: Wiley Blackwell, 2010.
- BEN-AMOTZ, A. Effect of low temperature on the stereoisomer composition of β -carotene in the halotolerant alga *Dunaliella bardawil* (Chlorophyta). **Journal of Phycology**, v. 32, n. 2, p. 272–275, 1996.
- BEN-AMOTZ, A.; LERS, A.; AVRON, M. Stereoisomers of beta-Carotene and Phytoene in the Alga *Dunaliella bardawil*. **Plant physiology**, v. 86, n. 4, p. 1286–1291, 1988.

BERNHARDT, H.; CLASEN, J. Flocculation of micro-organism. **Journal of Water Supply Research and Tecnology-Aqua**, v. 40, n. 2, p. 76–87, 1991.

BESSON, A.; GUIRAUD, P. High-pH-induced flocculation-flotation of the hypersaline microalga *Dunaliella salina*. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 464–470, nov. 2013.

BILANOVIC, D.; SHELEF, G.; SUKENIK, A. Flocculation of microalgae with cationic polymers — Effects of medium salinity. **Biomass**, v. 17, p. 65–76, 1988.

BOHUSLAV, D.; HANSJOACHIM, S. **Coagulation and Flocculation: theory and applications**. 2th. ed. Santa Barbara, CA: CRC Press, 2005.

BOLD, H. C. **Bristol Media**. Disponível em:
<<http://www.sbs.utexas.edu/utex/mediaDetail.aspx?mediaID=29>>.

BOLTO, B.; GREGORY, J. Organic polyelectrolytes in water treatment. **Water Research**, v. 41, n. 11, p. 2301–2324, 2007.

BORGES, L. et al. Effects of flocculants on lipid extraction and fatty acid composition of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 10, p. 4449–4454, 2011.

BOROWITZKA, M. A. Marine Bioprocess Engineering, Proceedings of an International Symposium organized under auspices of The Working Party on Applied Biocatalysis of the European Federation of Biotechnology and The European Society for Marine Biotechnology. **Progress in Industrial Microbiology**, Progress in Industrial Microbiology. v. 35, p. 313–321, 1999.

BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZKA, L. J. **Micro-algal biotechnology**. [s.l.] Cambridge University Press, 1988.

BOROWITZKA, M. A.; HUISMAN, J. M. The ecology of *Dunaliella salina* (Chlorophyceae, Volvocales): effect of environmental conditions on aplanospore formation. **Botanica marina**, v. 36, n. 3, p. 233–244, 1993.

BOROWITZKA, M. A.; SIVA, C. J. The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 5, p. 567–590, 2007.

BRADY, P. V.; POHL, P. I.; HEWSON, J. C. A coordination chemistry model of algal autoflocculation. **Algal Research**, v. 5, p. 226–230, 2014.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, fev. 2010.

BURLEW, J. S. **Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant**. Fifth ed. ed. Washinton, D. C: Carnegie Institution of Washington Publication, 1953.

CARVALHO, A. P.; MEIRELES, A.; MALCATA, F. X. Microalgal Reactors : A Review of Enclosed System Designs and Performances. **Biotechnology Progress**, v. 22, n. 6, p. 1490–1506, 2006.

CHATSUNGNOEN, T.; CHISTI, Y. Harvesting microalgae by flocculation–sedimentation. **Algal Research**, v. 13, p. 271–283, 2016.

CHAUMONT, D. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 6, p. 593–604, dez. 1993.

CHEMBLINK. **Polyquaternium-33 [69418-26-4]**. Disponível em: <<http://www.chemblink.com/products/69418?26?4.htm>>. Acesso em: 26 dez. 2015a.

CHEMBLINK. **Adipic acid [124-04-9]**. Disponível em: <<http://www.chemblink.com/products/124?04?9.htm>>. Acesso em: 26 dez. 2015b.

CHEMBLINK. **Poly(acrylamide) [9003-05-8]**. Disponível em: <<http://www.chemblink.com/products/9003?05?8.htm>>. Acesso em: 27 dez. 2015c.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 126–131, 2007.

CHOW, Y. et al. The role of micronutrients and strategies for optimized continual glycerol production from carbon dioxide by *Dunaliella tertiolecta*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 112, n. 10, p. 2163–2171, 2015.

CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 686–702, 2011.

CIBA, S. C. C. **Magnafloc® 351** Material Safety Data Sheet, 2006.

DANQUAH, M. K. et al. Dewatering of microalgal culture for biodiesel production: Exploring polymer flocculation and tangential flow filtration. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 7, p. 1078–1083, 2009.

DAVIS, E. A. et al. Laboratory Experiments on *Chlorella* Culture at the Carnegie Institution of Washington Department of Plant Biology. In: BURLEW, J. S. (Ed.). . **Algal Culture: From Laboratory to Pilot Plant**. Fifth ed. ed. Washinton, D. C: Carnegie Institution of Washington Publication, 1953. p. 357.

DELLOYD'S, L. T. RESOURCES REAGENTS AND S. **Preparation of pH buffer solutions**. Disponível em: <<http://delloyd.50megs.com/moreinfo/buffers2.html>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

DIVAKARAN, R.; PILLAI, V. N. S. Flocculation of algae using chitosan. **Journal of Applied Phycology**, v. 14, n. 5, p. 419–422, 2002.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LÍVANSKÝ, K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, n. 5, p. 403–412, out. 2005.

EGARDT, J. et al. Microalgae: A market analysis carried out as part of the Interreg KASK IVA project: Blue Biotechnology for Sustainable Innovations, “Blue Bio”. **Blue Bio**, n. January, 2013.

EUROPEAN, C. H. 2020. **The SME Instrument - European Commission**.

Disponível em: <<https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/h2020-section/sme-instrument>>. Acesso em: 13 jan. 2016.

GARCÍA-GONZÁLEZ, M. et al. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, n. 2-3, p. 177–184, 2003.

GOLDMAN, J. C.; DENNETT, M. R.; CAROL, B. Inorganic Carbon Sources and Biomass Regulation in Intensive Microalgal Cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 23, p. 995–1014, 1981.

GÓMEZ, P. I. et al. Effect of salinity on the quantity and quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-007) and *Dunaliella bardawil* (strain ATCC 30861) chlorophyta. **Biological Research**, v. 36, n. 2, p. 185–192, 2003.

GÓMEZ, P. I.; GONZÁLEZ, M. A. Genetic variation among seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) with industrial potential, based on RAPD banding patterns and on nuclear ITS rDNA sequences. **Aquaculture**, v. 233, n. 1-4, p. 149–162, 2004.

GÓMEZ, P. I.; GONZÁLEZ, M. A. The effect of temperature and irradiance on the growth conditions. **Biological Research**, v. 38, p. 151–162, 2005.

GOMORI, G. Preparation of buffers for use in enzyme studies. **Methods in Enzymology**, v. 1, n. C, p. 138–146, 1955.

GORIN, K. V. et al. Methods coagulation/flocculation and flocculation with ballast agent for effective harvesting of microalgae. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 178–184, 2015.

GOUVEIA, L. et al. *Neochloris oleabundans* UTEX #1185: A suitable renewable lipid source for biofuel production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 6, p. 821–826, 2009.

GREENWELL, H. C. et al. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. **Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society**, v. 7, n. 46, p. 703–726, 2009.

GREENWELL, H. C. et al. Placing microalgae on the biofuels priority list: A review of the technological challenges. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 7, n. 46, p. 703–726, 2010.

GREGORY, J. Monitoring particle aggregation processes. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 147-148, p. 109–123, 2009.

GRIMA, E. M. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology advances**, v. 20, n. 7, p. 491–515, 2003.

GUDIN, C.; CHAUMONT, D. Cell fragility — The key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 38, n. 2-3, p. 145–151, jan. 1991.

GUDIN, C.; THEPENIER, C. Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae. **Advances in biotechnological processes (USA)**, 1986.

GUMMERT, F.; MEFFERT, M.-E.; STRATMANN, H. Nonsterile large-scale culture of *Chlorella* in greenhouse and open air. In: BURLEW, J. S. (Ed.). . **Algal Culture From** Fifth ed ed. Washinton, D. C: Carnegie Institution of Washington Publication, 1953. p. 357.

HADJOUDJA, S.; DELUCHAT, V.; BAUDU, M. Cell surface characterisation of *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris*. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 342, n. 2, p. 293–299, 2010.

HANSEL, P. A.; GUY RIEFLER, R.; STUART, B. J. Efficient flocculation of microalgae for biomass production using cationic starch. **Algal Research**, v. 5, p. 133–139, 2014.

HARITH, Z. T. et al. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 21, p. 5971–5978, 2009.

HARUN, R. et al. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 3, p. 1037–1047, abr. 2010.

HAUSSER, S. **Counting Chambers Fuchs-Rosenthal**. Disponível em: <<http://www.hausserscientific.com/products/fuchs-rosenthal.html>>. Acesso em: 14 jan. 2016.

HEASMAN, M. et al. Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs - a summary. **Aquaculture Research**, v. 31, n. 8-9, p. 637–659, 2000.

HUESEMANN, M. H.; BENEMANN, J. R. Biofuels from microalgae: review of products, processes and potential, with special focus on *Dunaliella* sp. In: **The Allga Dunaliella - Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology**. Enfield (NH): Science Publishers, 2009. p. 445–474.

HUO, S. et al. Process Analysis of Alkaline Flocculation Harvesting for *Chaetoceros muelleri* and *Scenedesmus quadricauda*. **Bioenergy Research**, p. 1–9, 2016.

JAMES, C. M.; AL-KHARS, A. M. An Intensive Continuous Culture System Using Tubular Photobioreactors for Producing Microalgae. **Aquaculture**, v. 87, p. 381–393, 1990.

KLOK, A. J. et al. Simultaneous growth and neutral lipid accumulation in microalgae. **Bioresource Technology**, v. 134, p. 233–243, 2013.

KNUCKEY, R. M. et al. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. **Aquacultural Engineering**, v. 35, p. 300–313, 2006.

LEE, C.; PALSSON, B. High-Density Algal Photobioreactors Using Light-Emitting Diodes. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 44, n. 10, p. 1161–1167, 1994.

LEE, Y.-K. Enclosed bioreactors for the mass cultivation of photosynthetic microorganisms: the future trend. **Trends in Biotechnology**, v. 4, n. July, p. 186–189, 1986.

LEVINE, R. B.; COSTANZA-ROBINSON, M. S.; SPATAFORA, G. A. Neochloris oleoabundans grown on anaerobically digested dairy manure for concomitant nutrient removal and biodiesel feedstock production. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 1, p. 40–49, 2010.

LI, Y. et al. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga Neochloris oleoabundans. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 81, n. 4, p. 629–636, 2008.

LICHENG, P. **Mitigation of Oxygen Stress and Contamination-free Cultivation in Microalga Cultures** Ré sumé. [s.l.] University of Ottawa, 2016.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit Operations of Chemical Engineering**. 5th. ed. New York: McGraw-Hill Chemical Engineering series, 1993.

MELIS, A.; NEIDHARDT, J.; BENEMANN, J. R. Dunaliella salina (Chlorophyta) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells. **Journal of Applied Phycology**, v. 10, n. 6, p. 515–525, 1998.

MIL'KO, E. S. Study of the requirements of two Dunaliella species in mineral and organic components of the medium. Moscow University, Vestnik. **Biologia**, v. 6, p. 21–23, 1962.

MILLEDGE, J. J.; HEAVEN, S. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 165–178, 2013.

MIRÓN, A. S. et al. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 35, n. C, p. 249–270, 1999.

MISHRA, A.; MANDOLI, A.; JHA, B. Physiological characterization and stress-induced metabolic responses of Dunaliella salina isolated from salt pan. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 1093–1101, 2008.

MIYAMOTO, K.; WABLE, O.; BENEMANN, J. R. Vertical Tubular Reactor for Microalgae Cultivation. **Biotechnology letters**, v. 10, p. 703–708, 1988.

MURRAY, K. E. et al. Biomass production and nutrient uptake by Neochloris oleoabundans in an open trough system. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, n. 1, p. 89–95, 2011.

MURRAY, K. E. et al. Productivity, carbon utilization, and energy content of mass in scalable microalgae systems. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 499–506, 2012.

OHSE, S. et al. Produção de biomassa e teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteína em microalgas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1760–1767, 2009.

ORSET, S. C.; YOUNG, A. J. Exposure to low irradiances favors the synthesis of 9-cis β , β -carotene in Dunaliella salina (Teod.). **Plant physiology**, v. 122, n. 2, p. 609–618, 2000.

ORSET, S.; YOUNG, A. J. Low-Temperature-Induced Synthesis Of A-Carotene In

The Microalga *Dunaliella Salina* (Chlorophyta). **Journal of Phycology**, v. 35, n. 3, p. 520–527, 1999.

PAPAZI, A.; MAKRIDIS, P.; DIVANACH, P. Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 3, p. 349–355, 2010.

PIRT, S. J. et al. A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 33B, p. 35–58, 1983.

PRUVOST, J. et al. Investigation of biomass and lipids production with *Neochloris oleoabundans* in photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5988–5995, 2009.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, p. 635–648, 2004.

RAKESH, S. et al. Comparative evaluation of inorganic and organic amendments for their flocculation efficiency of selected microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 399–406, 2014.

RICHMOND, A. Mass culture of cyanobacteria. In: **Photosynthetic prokaryotes**. [s.l.] Springer, 1992. p. 181–208.

RICHMOND, A.; BECKER, E. W. Technological aspects of mass cultivation-a general outline. In: RICHMOND, A.; HU, Q. (Eds.). **Handbook of microalgal mass culture**. 2nd. ed. Oxford, UK: CRC Press: Boca Raton, FL, 1986. p. 245–263.

RICHMOND, A.; HU, Q. **Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology**. Second ed. Oxford, UK: John Wiley & Sons, 2013.

SAG. *Dunaliella* Medium (DUN). **Sammlung von Algenkulturen Göttingen Culture Collection of Algae**, p. 1–3, 2008.

SALIM, S. et al. Harvesting of microalgae by bio-flocculation. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 5, p. 849–855, 2011.

SALIM, S.; VERMUE, M. H.; WIJFFELS, R. H. Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 49–55, 2012.

SANTOS, A. M. et al. Growth of oil accumulating microalga *Neochloris oleoabundans* under alkaline-saline conditions. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 593–599, 2012.

SATHASIVAM, R.; JUNTAWONG, N.; PROGRAM, B. Modified medium for enhanced growth of *Dunaliella* strains. p. 67–73, 2013.

SCHENK, P. M. et al. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. **BioEnergy Research**, v. 1, n. 1, p. 20–43, 2008.

SCHLESINGER, A. et al. Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts theories; overcoming a major hurdle to bulk algal production. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 5, p. 1023–1030, 2012.

SEACHEM, L. INC. **Salinity**™. Disponível em:
<<http://www.aquavitro.com/products/salinity.html>>. Acesso em: 14 jan. 2016.

SERENOTTI, F.; CRESPI, B. A.; TORRES, L. D. E. G. I. L. Contribuição à modelagem da produção de. p. 8–17, 2004.

SHAISH, A.; BEN-AMOTZ, A.; AVRON, M. Biosynthesis of ??-carotene in *Dunaliella*. **Methods in Enzymology**, v. 213, n. 1988, p. 439–444, 1992.

SHELEF, G.; SUKENIK, A. Microalgae Harvesting and Processing : A Literature Review. n. 0, p. 65, 1984.

SINGH, R. N.; SHARMA, S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 4, p. 2347–2353, maio 2012.

SINGH, R. P. et al. Novel biodegradable flocculants based on polysaccharides. **Current Science**, v. 78, n. 7, p. 798–803, 2000.

ŞIRIN, S. et al. Harvesting the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 5, p. 1067–1080, 2012.

SOUSA, C. et al. Growth of the microalgae *Neochloris oleoabundans* at high partial oxygen pressures and sub-saturating light intensity. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 565–570, 2012.

STANIER, R. et al. BG11 (Blue-Green Medium). **Culture Collection of Algae and Protozoa**, v. 11, n. 1, p. 559001, 1971.

SUH, I. S.; LEE, C.-G. Photobioreactor Engineering: Design and Performance. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 8, n. 6, p. 313–321, dez. 2003.

T'LAM, G. P. et al. Cationic polymers for successful flocculation of marine microalgae. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 804–807, 2014.

TAN, H. H. Algae-to-biodiesel at least five to 10 years away. **Energy Current: News for the Business of Energy, Singapore**, 2008.

TANG, H. et al. Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3324–3330, 2011.

TEODORESCO, E. C. Organisation et developpement du DiouthlUt, nouveau genre de Volvocacee-Polyblepharidee. **Bot Zentralbl Beih**, v. 18, p. 215–232, 1905.

TOMINAGA, H.; FUKUI, F. Saline lakes at Syowa Oasis, Antarctica. **Hydrobiologia**, v. 81-82, n. 1, p. 375–389, 1981.

TORZILLO, G. et al. Production of *Spirulina* Biomass in Closed Photobioreactors. **Biomass**, v. 11, p. 61–74, 1986.

TREDICI, M. R. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. **Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 143–162, 2010.

TREDICI, M. R.; MATERASSI, R. From open ponds to vertical alveolar panels: the

Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms. **Journal of Applied Phycology**, v. 4, n. 3, p. 221–231, set. 1992.

U. S. DOE. National algal biofuels technology roadmap. **US Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Biomass Program**, 2010.

UDUMAN, N. et al. Dewatering of Microalgal Cultures: a Major Bottleneck to Algae-Based Fuels. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 2, n. 1, p. 15, 2010.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 4021–8, jul. 2008.

VANDAMME, D. et al. Flocculation of microalgae using cationic starch. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 4, p. 525–530, 2010.

VANDAMME, D. et al. Reversible Flocculation of Microalgae using Magnesium Hydroxide. **BioEnergy Research**, v. 8, p. 716–725, 2015.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLEAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, 2013.

VIGANI, M. et al. Food and feed products from micro-algae: Market opportunities and challenges for the EU. **Trends in Food Science & Technology**, v. 42, n. 1, p. 81–92, 2015.

VONSHAK, A.; RICHMOND, A. Mass production of the blue-green alga *Spirulina*: An overview. **Biomass**, v. 15, n. 4, p. 233–247, 1988.

WAN, C. et al. Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 251–257, 2014.

WANG, B.; LAN, C. Q. Optimising the lipid production of the green alga *Neochloris oleoabundans* using box-behnken experimental design. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 89, n. 4, p. 932–939, 2011.

WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. An outlook on microalgal biofuels. **Science**, v. 329, n. 5993, p. 796–799, 2010.

WOOD, A. A simple wastewater treatment system incorporating the selective cultivation of a filamentous algae. **Water science and technology**, v. 19, n. 7, p. 1251–1254, 1987.

XU, L. et al. Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, n. 3, p. 178–189, jun. 2009.

YING, K. Growth Enhancement of *Dunaliella salina* by Microbubble Induced Airlift Loop Bioreactor (ALB)—The Relation between Mass Transfer and Growth Rate. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 04, p. 1–9, 2013.

YONGMANITCHAI, W.; WARD, O. P. Growth and Eicosapentaenoic Acid Production

by *Phaeodactylum tricornutum* in Batch and Continuous Culture Systems. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 69, n. 6, p. 584–590, 1992.

ZENG, X. et al. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 6, p. 3252–3260, 2011.

ZIMMERMAN, W. B. et al. Design of an airlift loop bioreactor and pilot scales studies with fluidic oscillator induced microbubbles for growth of a microalgae *Dunaliella salina*. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3357–3369, 2011.

ZOU, S. et al. Thermochemical catalytic liquefaction of the marine microalgae *dunaliella tertiolecta* and characterization of bio-oils. **Energy and Fuels**, v. 23, n. 7, p. 3753–3758, 2009.

APÊNDICE A. *Neochloris Oleoabundans*

A.1 FLOCULAÇÃO 1 – NEOCHLORIS OLEOABUNDANS

A.1.1 ZETAG ® 8165

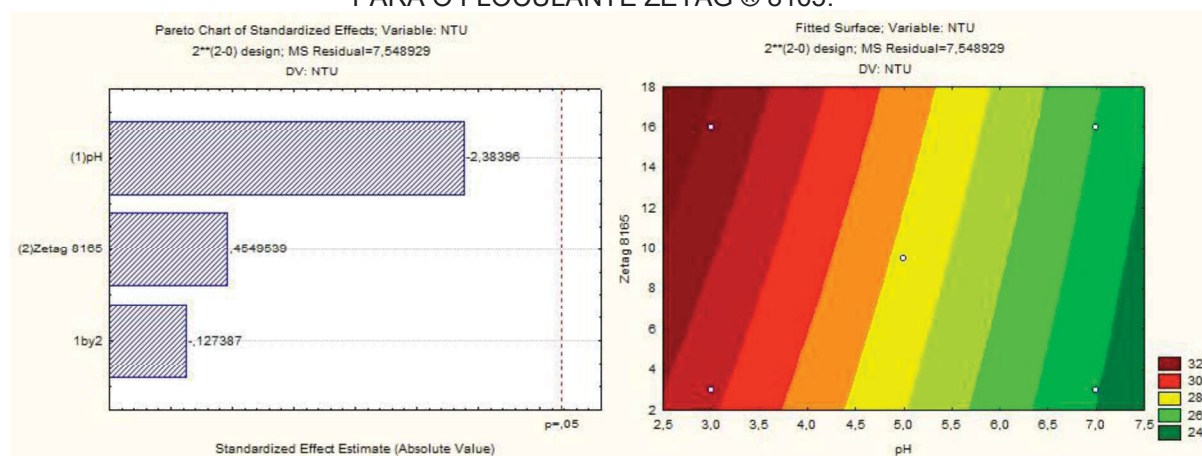
TABELA 19 — DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA *N. oleoabundans*

| | Effect | Std. Err. | t(3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|----------------------|--------|-----------|-------|---------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 27,77 | 1,04 | 26,75 | 1,2E-04 | 24,47 | 31,08 | 27,77 | 1,04 | 24,47 | 31,08 |
| pH ¹ | -6,55 | 2,75 | -2,38 | 9,7E-02 | -15,30 | 2,19 | -3,28 | 1,38 | -7,65 | 1,10 |
| Zetag ® ² | 1,25 | 2,75 | 0,46 | 6,8E-01 | -7,30 | 9,99 | 0,62 | 1,38 | -3,75 | 4,99 |
| 8165 | | | | | | | | | | |
| 1 by 2 | -0,35 | 2,75 | -0,13 | 9,1E-01 | -9,10 | 8,39 | -0,18 | 1,38 | -4,55 | 4,20 |

FONTE: o autor, 2015

Pode-se observar que as variáveis não apresentaram efeito significativo no intervalo de confiança de 5% (TABELA 19). Isso pode ser observado (FIGURA 29) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a direita). Já a superfície resposta demonstra que há uma tendência da redução em pH 6 com uma melhora em 7,5, o que remete que o próximo experimente o pH precisa ser avaliada na faixa neutra à básica.

FIGURA 29 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165.



FONTE: o autor, 2015.

O modelo da superfície gerou uma equação que relaciona o floculante e o pH.

$$z = 34,4060 - 1,5096x + 0,1635y - 0,0135xy$$

A.1.2 ZETAG ® 8185

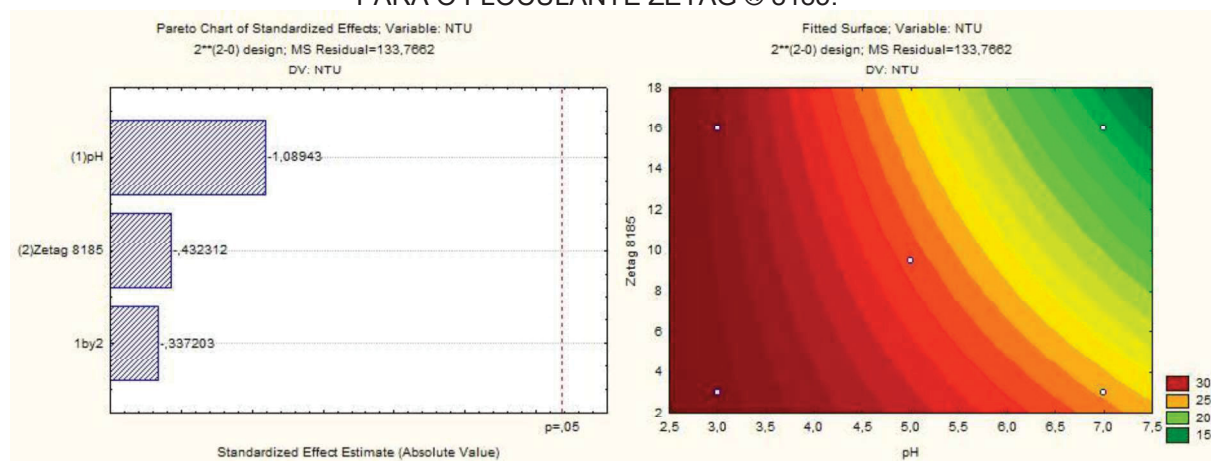
TABELA 20 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA *N. oleoabundans*.

| | Effect | Std. Err. | t (3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|----------------------|--------|-----------|-------|------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 26,61 | 4,37 | 6,03 | 0,01 | 12,70 | 40,53 | 26,61 | 4,37 | 12,70 | 40,53 |
| pH ¹ | -12,60 | 11,57 | -1,09 | 0,36 | -49,41 | 24,21 | -6,30 | 5,79 | -24,70 | 12,10 |
| Zetag ® ² | -5,00 | 11,57 | -0,43 | 0,69 | -41,81 | 31,81 | -2,50 | 5,79 | -20,90 | 15,90 |
| 8185 | | | | | | | | | | |
| 1 by 2 | -3,90 | 11,57 | -0,34 | 0,76 | -40,71 | 32,91 | -1,95 | 5,79 | -20,35 | 16,45 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que as variáveis não apresentaram efeito significativo no intervalo de confiança de 5% (TABELA 20). Isso pode ser observado (FIGURA 30) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (à esquerda). Já a superfície resposta (à direita) demonstra que para um pH acima de 7 e concentração de floculante precisaria ser mais alta, acima de 16 mg. L⁻¹.

FIGURA 30 – DIAGRAMA DE PARETO (À ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (À DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185.



Fonte: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8185 a equação se apresentou sendo:

$$z = 38,8931 - 1,725x + 0,3654y - 0,15xy$$

A.1.3 ZETAG ® 7652

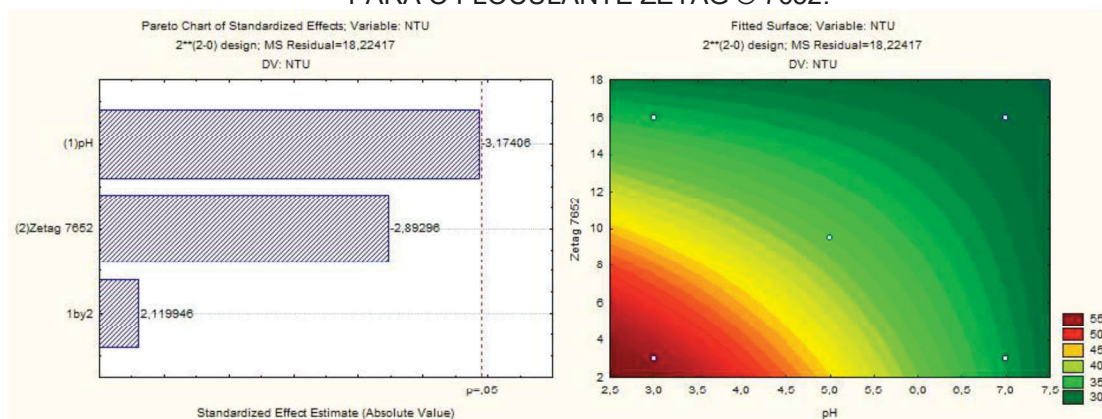
TABELA 21 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA *N. oleoabundans*.

| | Effect | Std. Err. | t (3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|----------------------|--------|-----------|-------|--------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 37,00 | 1,61 | 22,93 | 2,0E-4 | 31,86 | 42,13 | 37,00 | 1,61 | 31,86 | 42,13 |
| pH ¹ | -13,50 | 4,27 | -3,17 | 0,0503 | -27,14 | 0,03 | -6,78 | 2,13 | -13,57 | 0,02 |
| Zetag ® ² | -12,35 | 4,27 | -2,89 | 0,0629 | -25,94 | 1,23 | -6,18 | 2,13 | -12,97 | 0,62 |
| 7652 | | | | | | | | | | |
| 1 by 2 | 9,05 | 4,27 | 2,12 | 0,1242 | -4,54 | 22,63 | 4,52 | 2,13 | -2,27 | 11,32 |

Fonte: o autor, 2015.

Pode-se observar que as variáveis não apresentaram efeito significativo no intervalo de confiança de 5% (TABELA 21). Isso pode ser observado (FIGURA 31) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que o pH acima de 5 e concentração de floculante acima de 12 mg. L⁻¹, indicam melhor eficiência do processo de floculação.

FIGURA 31 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 7652 a equação se apresentou sendo:

$$z = 79,4962 - 6,6942x - 2,6904y + 0,3481xy$$

A.1.4 ZETAG ® 4120

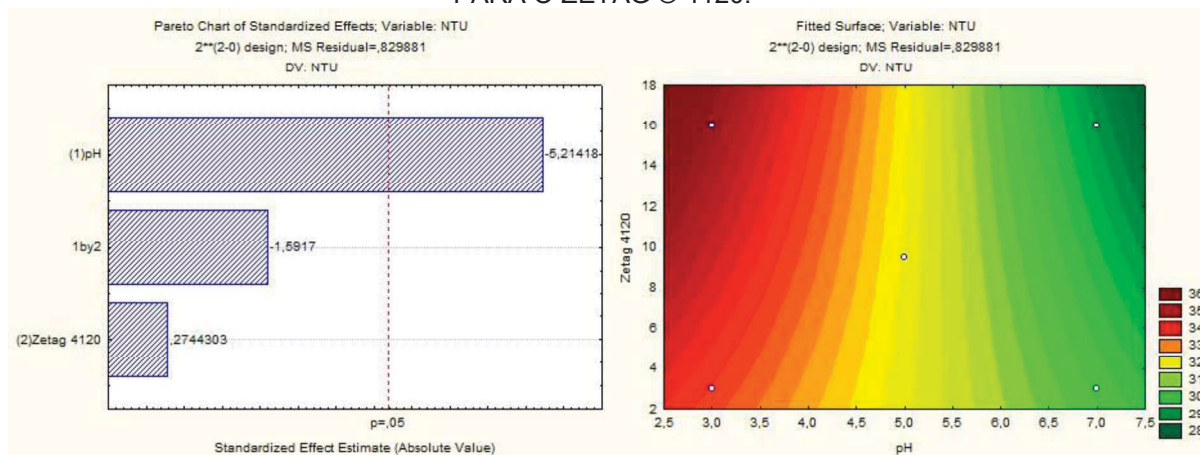
TABELA 22 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA *N. oleoabundans*.

| | Effect | Std. Err. | t (3) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|---------------------------|--------|-----------|-------|----------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 31,96 | 0,34 | 92,81 | 2,76E-06 | 30,86 | 33,05 | 31,96 | 0,34 | 30,86 | 33,05 |
| pH ¹ | -4,75 | 0,91 | -5,21 | 1,37E-02 | -7,65 | -1,85 | -2,38 | 0,46 | -3,82 | -0,93 |
| Zetag ® ² 4120 | 0,25 | 0,91 | 0,27 | 8,02E-01 | -2,65 | 3,15 | 0,12 | 0,46 | -1,32 | 1,57 |
| 1 by 2 | -1,45 | 0,91 | -1,59 | 2,10E-01 | -4,35 | 1,45 | -0,72 | 0,46 | -2,17 | 0,72 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou efeito significativo no intervalo de confiança de 5% (TABELA 22). Isso pode ser observado (FIGURA 32) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que o pH acima de 5 e concentração de floculante acima de 12 mg. L⁻¹, indicam melhor eficiência do processo de floculação.

FIGURA 32 – DIAGRAMA DE PARETO (À ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (À DIREITA) PARA O ZETAG ® 4120.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 4120. A equação baixa é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = 35,0629 - 0,6577x$$

A.1.5 MAGNAFLOC® LT 22

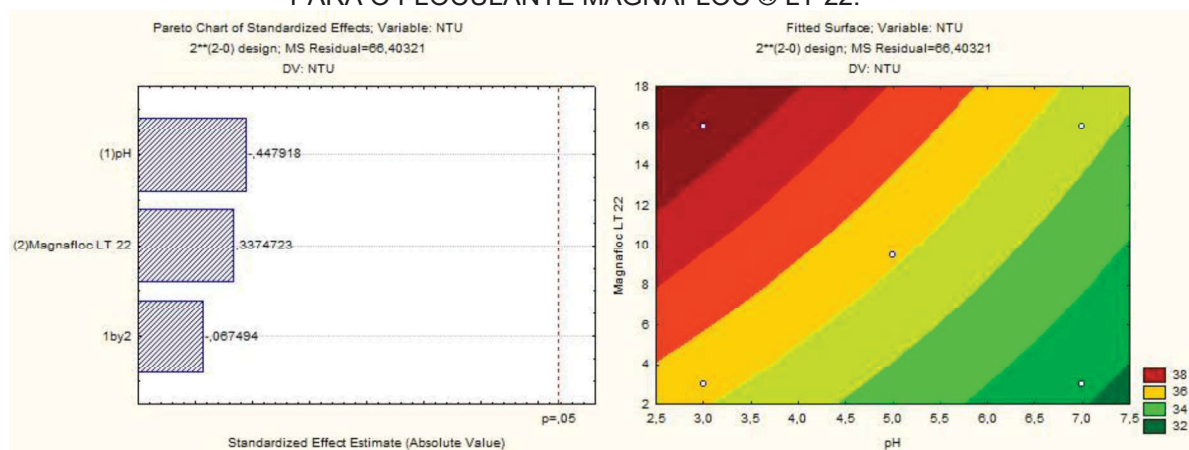
TABELA 23 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22.

| | Effect | Std. Err. | t (3) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-------------------------------|--------|-----------|-------|---------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 35,14 | 3,08 | 11,41 | 1,4E-03 | 25,34 | 44,94 | 35,14 | 3,08 | 25,34 | 44,94 |
| pH ¹ | -3,65 | 8,15 | -0,45 | 6,8E-01 | -29,58 | 22,28 | -1,83 | 4,07 | -14,79 | 11,14 |
| Magnafloc® ² LT 22 | 2,75 | 8,15 | 0,34 | 7,6E-01 | -23,18 | 28,68 | 1,38 | 4,07 | -11,59 | 14,34 |
| 1 by 2 | -0,55 | 8,15 | -0,07 | 9,5E-01 | -26,48 | 25,38 | -0,28 | 4,07 | -13,24 | 12,69 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que as variáveis não apresentaram efeito significativo no intervalo de confiança de 5% (TABELA 23). Isso pode ser observado (FIGURA 33) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que o pH acima de 7 e concentração de floculante abaixo de 8 mg. L⁻¹, indicam melhor eficiência do processo de floculação.

FIGURA 33 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante MAGNAFLOC® LT 22 a equação se apresentou sendo:

$$z = 36,6909 - 0,7115x + 0,3173y - 0,0212xy$$

A.1.6 MAGNAFLOC ® 351

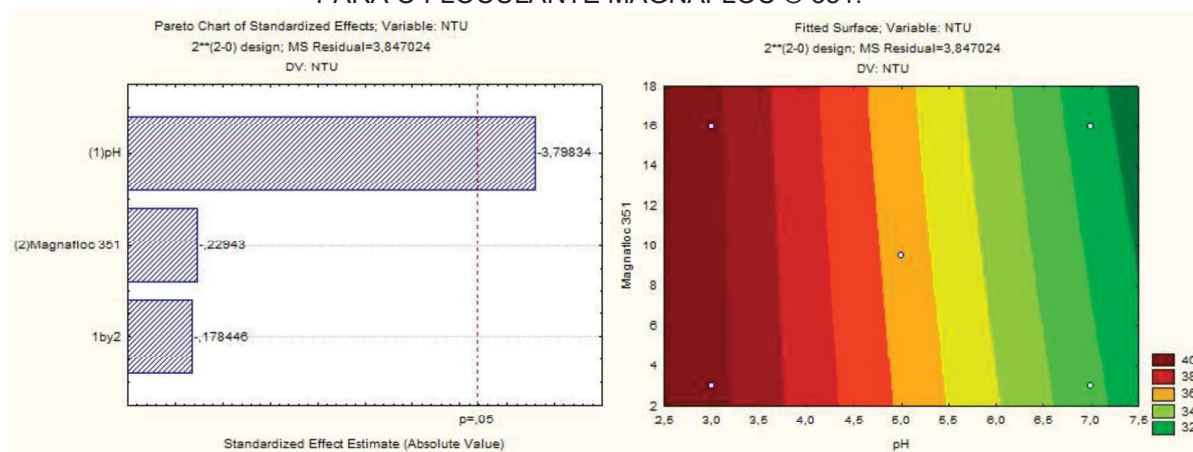
TABELA 24 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA *N. oleoabundans*.

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|----------------------|--------|----------|-------|---------|--------------------|--------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Mean/ Interc. | 35,59 | 0,74 | 48,00 | 2,0E-05 | 33,23 | 37,94 | 35,59 | 0,74 | 33,23 | 37,94 |
| pH ¹ | -7,45 | 1,96 | -3,80 | 3,2E-02 | -13,69 | -1,21 | -3,73 | 0,98 | -6,85 | -0,60 |
| Magnafloc ® 2 351 | -0,45 | 1,96 | -0,23 | 8,3E-01 | -6,69 | 5,79 | -0,22 | 0,98 | -3,35 | 2,90 |
| 1 by 2 | -0,35 | 1,96 | -0,18 | 8,7E-01 | -6,59 | 5,89 | -0,17 | 0,98 | -3,30 | 2,95 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou efeito significativo no intervalo de confiança de 5% (TABELA 24). Isso pode ser observado (FIGURA 34) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que o pH acima de 5 e concentração de floculante acima de 12 mg. L⁻¹, indicam melhor eficiência do processo de floculação.

FIGURA 34 – DIAGRAMA DE PARETO (À ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (À DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351.



FONTE: O autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante MAGNAFLOC ® 351. A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = 44,5876 - 1,7346x$$

A.2 FLOCULAÇÃO 2 – NEOCHLORIS OLEOABUNDANS

A.2.1 ZETAG ® 8165

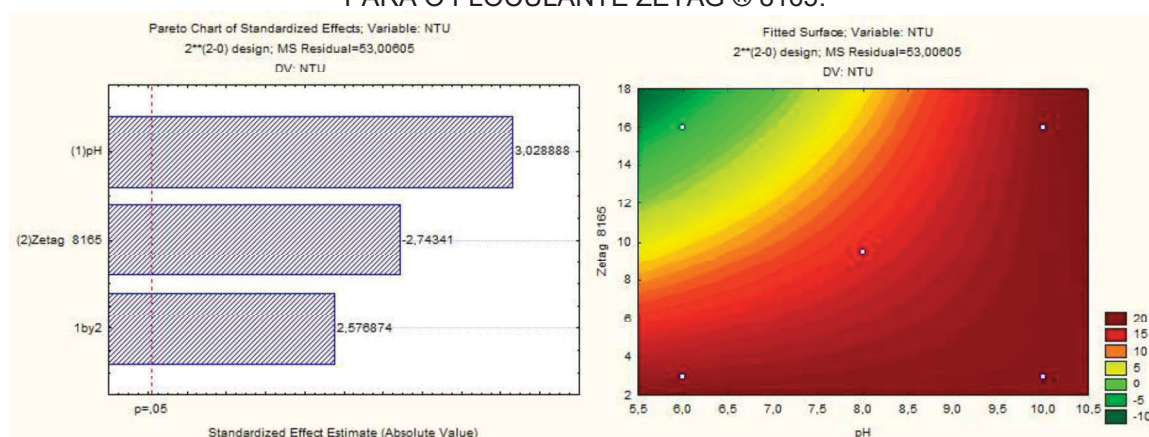
TABELA 25 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA *N. oleoabundans*.

| ** | Effect | Std.Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|------------------------------|--------|----------|--------|---------|--------------------|--------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Mean/ Interc. | 13,73 | 1,59 | 8,63 | 1,3E-07 | 10,36 | 17,07 | 13,72 | 1,59 | 10,36 | 17,07 |
| pH ¹ | 12,73 | 4,20 | 3,02 | 7,6E-03 | 3,86 | 21,60 | 6,37 | 2,10 | 1,93 | 10,80 |
| Zetag ® ² 8165 | -11,53 | 4,20 | -2,74 | 1,4E-02 | -20,40 | -2,66 | -5,77 | 2,10 | -10,20 | -1,33 |
| 1 by 2 | 10,83 | 4,20 | 2,58 | 1,9E-02 | 1,96 | 19,70 | 5,42 | 2,10 | 0,98 | 9,85 |

FONTE: o autor, 2015

Pode-se observar que todos os fatores investigados apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 25). Isso pode ser observado (FIGURA 35) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já na superfície resposta (a direita) demonstra que para concentrações mais altas e para faixa de pH abaixo de 6.

FIGURA 35 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8165 a equação se apresentou sendo:

$$z = 28,3402 - 0,7748x - 4,2199y + 0,4166xy$$

A.2.2 ZETAG ® 8185

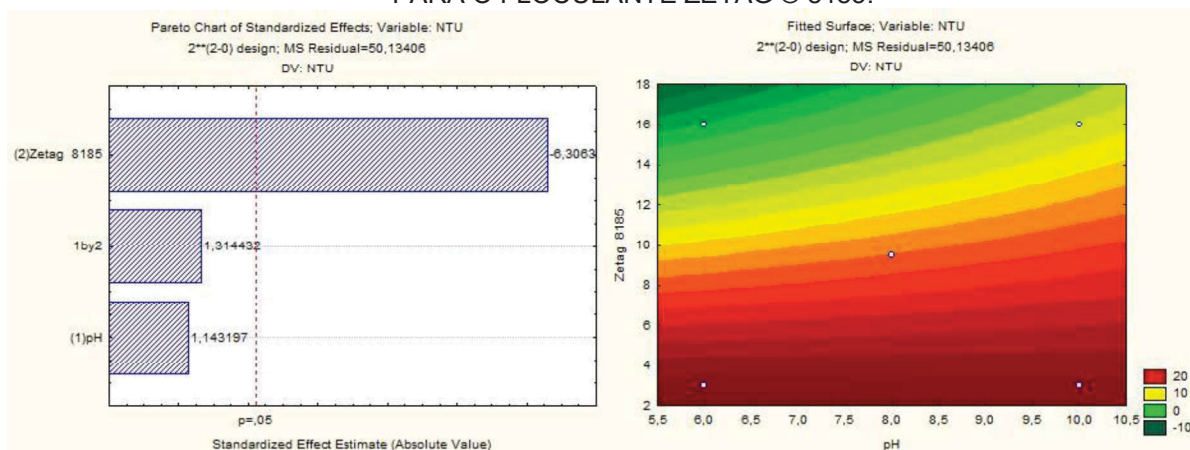
TABELA 26 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA *N. oleoabundans*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|----------------------|--------|-----------|--------|---------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 14,13 | 1,54 | 9,15 | 5,6E-08 | 10,87 | 17,39 | 14,13 | 1,54 | 10,87 | 17,39 |
| pH ¹ | 4,67 | 4,09 | 1,14 | 2,7E-01 | -3,95 | 13,30 | 2,34 | 2,04 | -1,98 | 6,65 |
| Zetag ® ² | -25,78 | 4,09 | -6,31 | 7,9E-06 | -34,40 | -17,16 | -12,90 | 2,04 | -17,20 | -8,58 |
| 8185 | | | | | | | | | | |
| 1 by 2 | 5,37 | 4,09 | 1,31 | 2,1E-01 | -3,25 | 13,99 | 2,69 | 2,04 | -1,63 | 6,99 |

FONTE: o autor, 2015

Pode-se observar que apenas a concentração de floculante apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 26). Isso pode ser observado (FIGURA 36) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra a tendência para concentrações altas, acima de 12 mg. L⁻¹. Quanto mais básico o meio, mais alta será a concentração necessária para obter um resultado satisfatório. A concentração de floculação mais adequada no intervalo testado é de 16 g/L, para qualquer faixa de pH no intervalo de 6 a 10.

FIGURA 36 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185.



FONTE: o autor, 2015

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8185. A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = 39,3307 - 3,63641y$$

A.2.3 ZETAG ® 7652

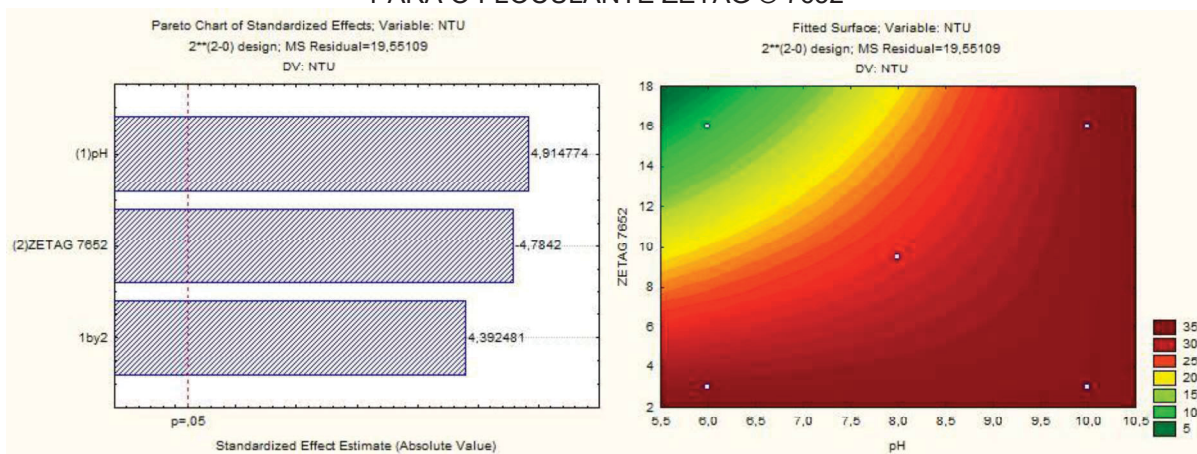
TABELA 27 DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA *N. oleoabundans*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|-----------------|--------|-----------|--------|---------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 27,34 | 0,96 | 28,34 | 9,5E-16 | 25,31 | 29,38 | 27,34 | 0,96 | 25,31 | 29,38 |
| pH ¹ | 12,55 | 2,55 | 4,92 | 1,3E-04 | 7,16 | 17,93 | 6,27 | 1,28 | 3,58 | 8,97 |
| ZETAG ® 7652 | -12,21 | 2,55 | -4,78 | 1,7E-04 | -17,60 | -6,83 | -6,11 | 1,28 | -8,80 | -3,41 |
| 1 by 2 | 11,21 | 2,55 | 4,39 | 3,9E-04 | 5,83 | 16,60 | 5,61 | 1,28 | 2,91 | 8,30 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que todos os fatores investigados apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 27). Isso pode ser observado (FIGURA 37) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que para concentrações mais altas (acima de 16 mg. L⁻¹) e para faixa de pH abaixo de 6 são as condições mais adequadas para o processo de floculação dentro do intervalo testado.

FIGURA 37 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 7652 a equação se apresentou sendo:

$$z = 43,9530 - 0,9605x - 4,3897y + 0,4313xy$$

A.2.4 ZETAG ® 4120

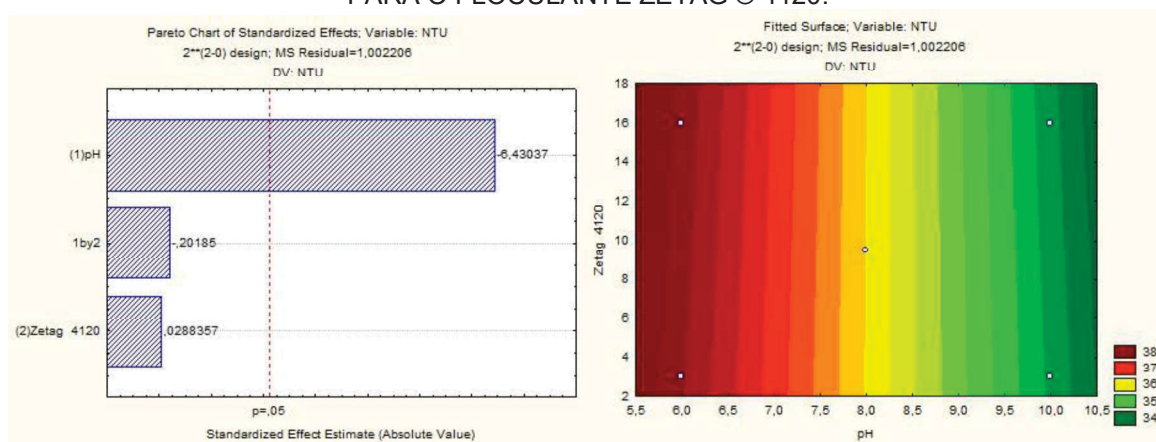
TABELA 28 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA *N. oleoabundans*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-----------------|--------|-----------|--------|---------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 36,00 | 0,22 | 164,80 | 1,1E-28 | 35,54 | 36,46 | 36,00 | 0,22 | 35,54 | 36,46 |
| pH ¹ | -3,72 | 0,58 | -6,43 | 6,2E-06 | -4,94 | -2,50 | -1,86 | 0,29 | -2,478 | -1,25 |
| Zetag ® 4120 | 0,02 | 0,58 | 0,03 | 9,8E-01 | -1,20 | 1,24 | 0,01 | 0,29 | -0,60 | 0,62 |
| 1 by 2 | -0,12 | 0,58 | -0,20 | 8,4E-01 | -1,34 | 1,10 | -0,06 | 0,29 | -0,67 | 0,55 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 28). Isso pode ser observado (FIGURA 38) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a esquerda) apresenta que para pH acima de 8 a redução é moderadamente eficiente, para qualquer concentração de floculante.

FIGURA 38 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 4120. A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = 43,0801 - 0,8865x$$

A.2.5 MAGNAFLOC® LT 22

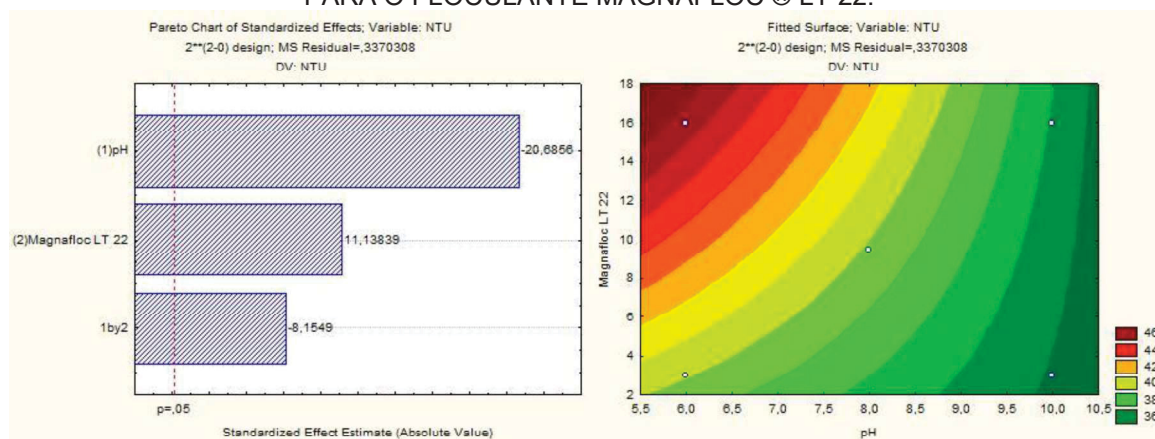
TABELA 29 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22 PARA *N. oleoabundans*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-------------------------------|--------|-----------|--------|---------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 38,86 | 0,13 | 306,76 | 0,0E+00 | 38,60 | 39,13 | 38,86 | 0,13 | 38,60 | 39,13 |
| pH ¹ | -6,93 | 0,34 | -20,69 | 1,7E-13 | -7,64 | -6,23 | -3,47 | 0,17 | -3,82 | -3,11 |
| Magnafloc® ² LT 22 | 3,73 | 0,34 | 11,14 | 3,1E-09 | 3,03 | 4,44 | 1,87 | 0,17 | 1,51 | 2,22 |
| 1 by 2 | -2,73 | 0,34 | -8,16 | 2,8E-07 | -3,44 | -2,03 | -1,37 | 0,17 | -1,72 | -1,01 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que todos os fatores investigados apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 29). Isso pode ser observado (FIGURA 39) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra a tendência a um aumento da quantidade necessária da concentração para que haja alguma redução da turbidez. Ligando os pontos 6;3, 10;8 e 16;10, observa-se que abaixo da diagonal secundária as eficiências são significativas. Ainda pode-se observar que quanto mais básico é a solução de interesse menor é a concentração de floculante necessária.

FIGURA 39 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante MAGNAFLOC® LT 22 a equação se apresentou sendo:

$$z = 42,0106 - 0,7346x + 1,1282y - 0,1051xy$$

A.2.6 MAGNAFLOC ® 351

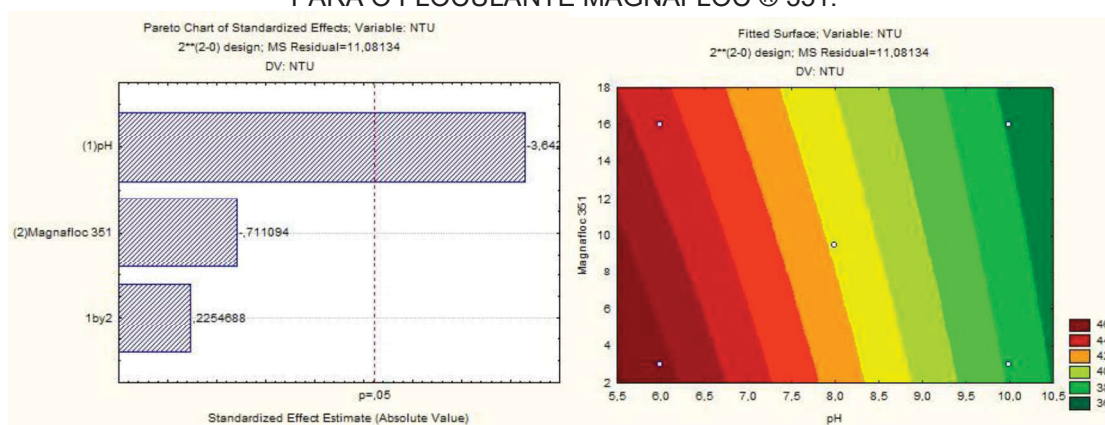
TABELA 30 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA *N. oleoabundans*

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|-------------------|--------|-----------|--------|---------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 40,86 | 0,73 | 56,25 | 9,3E-21 | 39,33 | 42,40 | 40,86 | 0,73 | 39,33 | 42,40 |
| pH ¹ | -7,00 | 1,92 | -3,64 | 2,0E-03 | -11,06 | -2,94 | -3,50 | 0,96 | -5,53 | -1,47 |
| Magnafloc ® 2 351 | -1,37 | 1,92 | -0,71 | 4,9E-01 | -5,42 | 2,69 | -0,68 | 0,96 | -2,71 | 1,34 |
| 1 by 2 | 0,43 | 1,92 | 0,22 | 8,2E-01 | -3,62 | 4,49 | 0,22 | 0,96 | -1,81 | 2,24 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 30). Isso pode ser observado (FIGURA 40) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que dentro da faixa testada, o intervalo de pH de 8 a 10 apresentaram melhor desempenho uma vez que a concentração aparentemente não apresenta significância sendo abrangente o intervalo de 3 a 16 mg. L⁻¹.

FIGURA 40 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante MAGNAFLOC ® 351. A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = 57,1273 - 1,9083x$$

APÊNDICE B. *Dunaliella salina*

B.1 FLOCULAÇÃO 1 – DUNALIELLA SALINA

B.1.1 ZETAG ® 8165

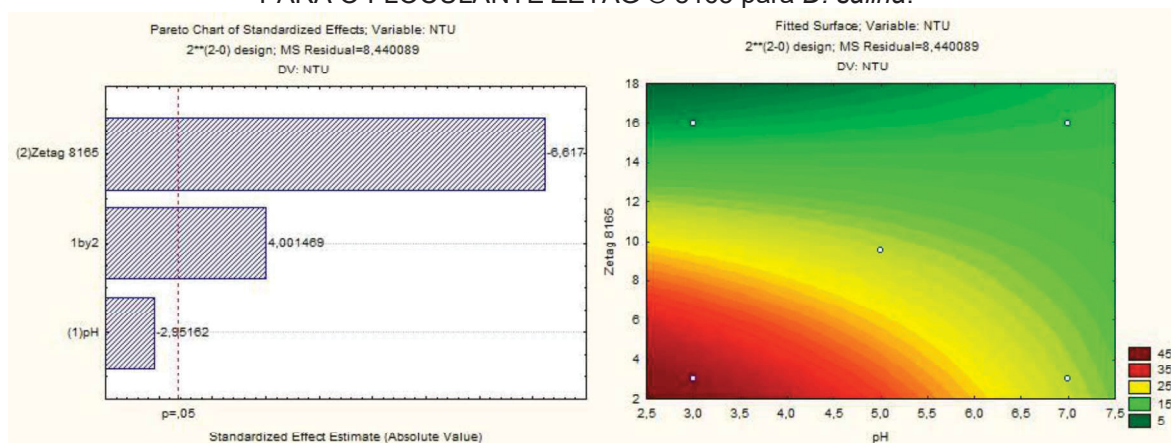
TABELA 31 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA *D. salina*

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|----------------------------|--------|----------|-------|------|------------------|------------------|--------|----------|------------------|------------------|
| Mean/ Interc. | 20,29 | 1,10 | 18,48 | 0,00 | 16,80 | 23,79 | 20,29 | 1,10 | 16,80 | 23,79 |
| pH ¹ | -8,58 | 2,91 | -2,95 | 0,06 | -17,82 | 0,67 | -4,29 | 1,45 | -8,91 | 0,34 |
| Zetag [®] 8165 | -19,23 | 2,91 | -6,62 | 0,01 | -28,47 | -9,98 | -9,61 | 1,45 | -14,24 | -4,99 |
| 1 by 2 | 11,63 | 2,91 | 4,00 | 0,03 | 2,38 | 20,87 | 5,81 | 1,45 | 1,19 | 10,44 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que a concentração do floculante e a relação pH-floculante apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 31). Isso pode ser observado (FIGURA 41) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra a tendência para concentrações mais altas em qualquer faixa de pH, porém se mostrando mais eficaz a concentrações acima de 12 mg. L⁻¹. Observa-se também que, acima da neutralidade há redução considerável da turbidez em qualquer faixa de concentração.

FIGURA 41 DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 para *D. salina*.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8165. A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera, apresentando a forma:

$$z = 66,2986 - 3,7144y + 0,4471xy$$

B.1.2 ZETAG ® 8185

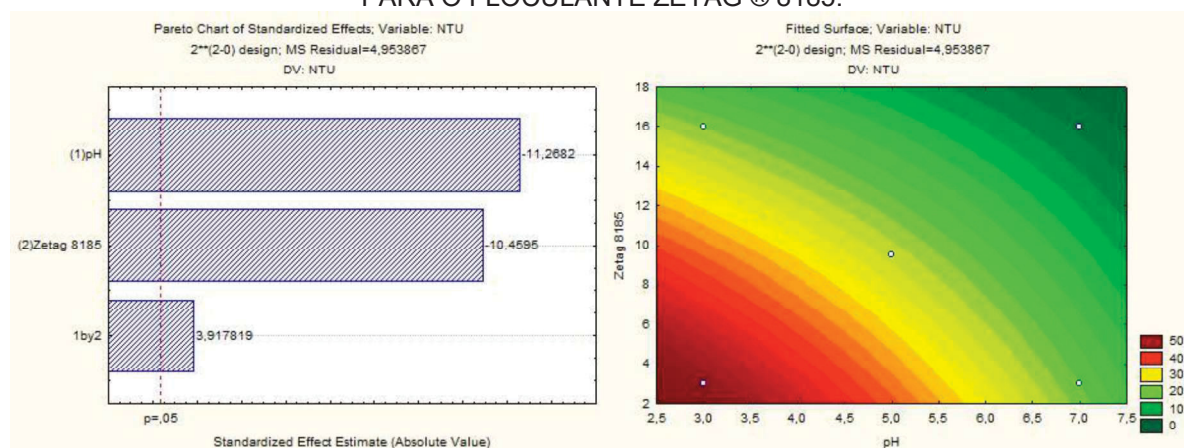
TABELA 32 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA *D. salina*.

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|------------------------------|--------|----------|--------|----------|--------------------|--------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Mean/ Interc. | 23,32 | 0,84 | 27,72 | 1,03E-04 | 20,64 | 26,00 | 23,32 | 0,84 | 20,64 | 26,00 |
| pH ¹ | -25,08 | 2,23 | -11,27 | 1,50E-03 | -32,16 | -18,00 | -12,54 | 1,11 | -16,08 | -9,00 |
| Zetag ® ² 8185 | -23,28 | 2,23 | -10,46 | 1,87E-03 | -30,36 | -16,20 | -11,64 | 1,11 | -15,18 | -8,10 |
| 1 by 2 | 8,72 | 2,23 | 3,92 | 2,96E-02 | 1,64 | 15,80 | 4,36 | 1,11 | 0,82 | 7,90 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que todos os fatores investigados apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 32). Isso pode ser observado (FIGURA 42) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que para concentrações mais altas e para faixa de pH abaixo da neutralidade o processo é mais eficiente. De uma forma simplificada, é possível imaginar uma diagonal principal na superfície ligando os pontos 16;3, 10;5 e 7;3 (concentração; pH), os pontos acima apresentaram boa redução da turbidez e, por conseguinte, a melhor eficiência.

FIGURA 42 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8185 a equação se apresentou sendo:

$$z = 87,6131 - 9,4562x - 3,4677y + 0,3354xy$$

B.1.3 ZETAG ® 7652

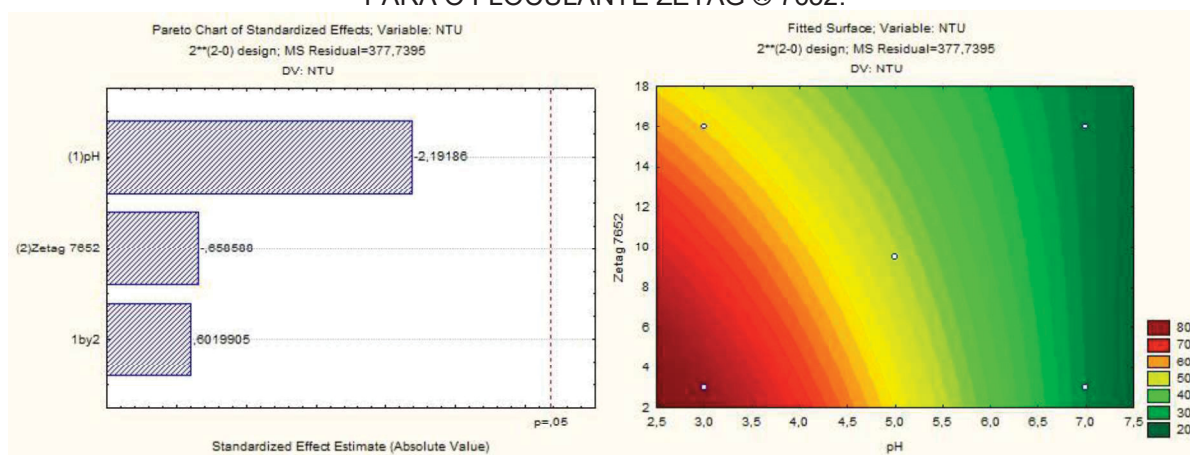
TABELA 33 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652 PARA *D. salina*.

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|------------------------------|--------|----------|-------|---------|------------------|------------------|--------|--------------------|------------------|------------------|
| Mean/ Interc. | 46,71 | 7,35 | 6,36 | 7,9E-03 | 23,34 | 70,09 | 46,71 | 7,35 | 23,34 | 70,09 |
| pH ¹ | -42,60 | 19,44 | -2,19 | 1,2E-01 | -104,45 | 19,25 | -21,30 | 9,72 | -52,23 | 9,63 |
| Zetag ® ² 7652 | -12,80 | 19,44 | -0,66 | 5,6E-01 | -74,65 | 49,05 | -6,40 | 9,72 | -37,33 | 24,53 |
| 1 by 2 | 11,70 | 19,44 | 0,60 | 5,9E-01 | -50,15 | 73,55 | 5,85 | 9,72 | -25,08 | 36,78 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que todos os fatores investigados não apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 33). Isso pode ser observado (FIGURA 43) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita), apresenta uma tendência conforme mais próximo da neutralidade a concentração necessária para a redução da turbidez diminui. Entre o intervalo de 6 a 7, a redução da turbidez é moderada; e acima de 7 as eficiências são significativas.

FIGURA 43 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 7652.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8185 a equação se apresentou sendo:

$$z = 130,6931 - 14,925x - 3,2346y + 0,45xy$$

B.1.4 ZETAG ® 4120

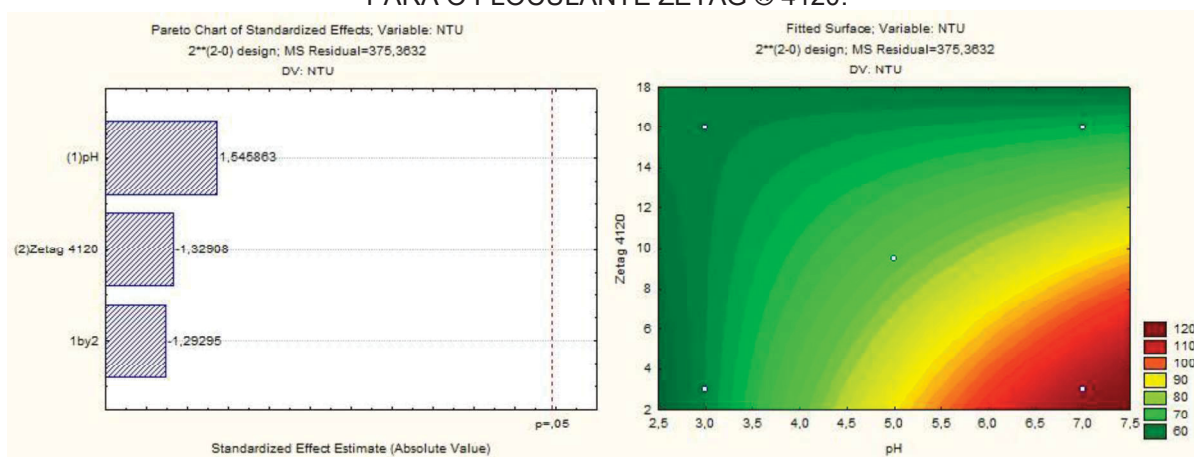
TABELA 34 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA *D. salina*.

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|------------------------------|--------|----------|-------|---------|------------------|------------------|--------|--------------------|------------------|------------------|
| Mean/ Interc. | 74,64 | 7,32 | 10,19 | 2,0E-03 | 51,34 | 97,95 | 74,64 | 7,32 | 51,34 | 97,95 |
| pH ¹ | 29,95 | 19,37 | 1,55 | 2,2E-01 | -31,71 | 91,61 | 14,98 | 9,69 | -15,85 | 45,80 |
| Zetag ® ² 4120 | -25,75 | 19,37 | -1,33 | 2,8E-01 | -87,41 | 35,91 | -12,88 | 9,69 | -43,70 | 17,95 |
| 1 by 2 | -25,05 | 19,37 | -1,29 | 2,9E-01 | -86,71 | 36,61 | -12,53 | 9,69 | -43,35 | 18,30 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que todos os fatores investigados não apresentaram significância ao nível de 5% (TABELA 34). Isso pode ser observado (FIGURA 44) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (à esquerda). Já na superfície resposta (à direita), observa-se que a tendência no sentido da acidificação da solução testada, nessa tendência temos que qualquer concentração de floculante apresenta alguma eficiência na redução da turbidez. De acordo com a superfície resposta a melhor condição é em pH abaixo de 3 para qualquer concentração de floculante.

FIGURA 44 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG ® 8185 a equação se apresentou sendo:

$$z = 10,2582 + 16,6404x + 2,8365y - 0,9635xy$$

B.1.5 MAGNAFLOC® LT 22

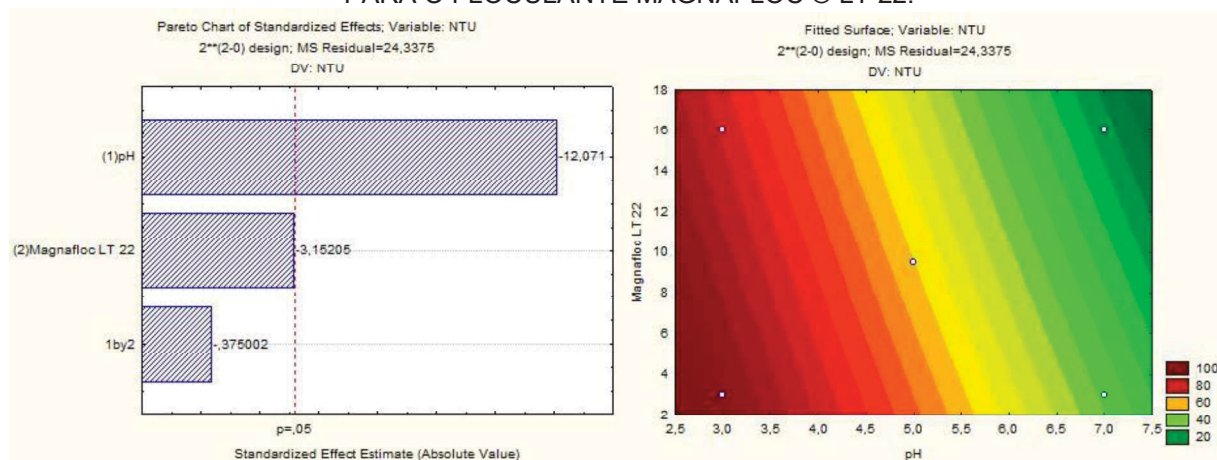
TABELA 35 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® 351 PARA *D. salina*.

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-----------------------------------|--------|----------|--------|---------|--------------------|--------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Mean/ Interc. | 56,20 | 1,86 | 30,14 | 8,0E-05 | 50,27 | 62,13 | 56,20 | 1,86 | 50,27 | 62,13 |
| pH ¹ | -59,55 | 4,93 | -12,07 | 1,2E-03 | -75,25 | -43,85 | -29,78 | 2,47 | -37,62 | -21,93 |
| Magnafloc ® ² LT 22 | -15,55 | 4,93 | -3,15 | 5,1E-02 | -31,25 | 0,15 | -7,78 | 2,47 | -15,62 | 0,07 |
| 1 by 2 | -1,85 | 4,93 | -0,38 | 7,3E-01 | -17,55 | 13,85 | -0,93 | 2,47 | -8,77 | 6,92 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 33). Isso pode ser observado (FIGURA 45) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (à esquerda). Já a superfície resposta (à direita), apresentou uma tendência de melhor condição para pH acima de 7 e concentrações de floculantes acima de 12 mg. L⁻¹.

FIGURA 45 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante ZETAG® 4120. A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = 138,6212 - 14,2115x$$

B.1.6 MAGNAFLOC ® 351

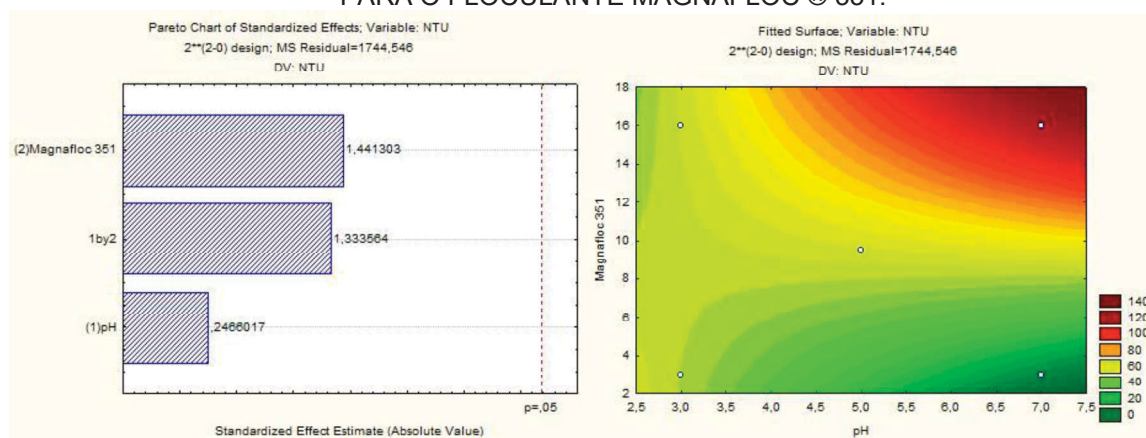
TABELA 36 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351 PARA *D. salina*.

| | Effect | Std.Err. | t (3) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|----------------------|--------|----------|-------|------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 55,24 | 15,79 | 3,50 | 0,04 | 5,00 | 105,48 | 55,24 | 15,79 | 5,00 | 105,48 |
| pH ¹ | 10,30 | 41,77 | 0,25 | 0,82 | -122,62 | 143,22 | 5,15 | 20,88 | -61,31 | 71,61 |
| Magnafloc ® 2 351 | 60,20 | 41,77 | 1,44 | 0,25 | -72,72 | 193,12 | 30,10 | 20,88 | -36,36 | 96,56 |
| 1 by 2 | 55,70 | 41,77 | 1,33 | 0,27 | -77,22 | 188,62 | 27,85 | 20,88 | -38,61 | 94,31 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que não apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 36). Isso pode ser observado (FIGURA 46) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita) demonstra que para um pH a partir de 3 se deslocando à neutralidade e concentração de floculante abaixo 8 mg. L⁻¹, encontra-se a (s) condição (os) de melhor eficiência.

FIGURA 46 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351.



FONTE: o autor, 2015.

A partir da superfície resposta pode-se retirar a equação que ajusta o modelo do experimento, sendo para o floculante MAGNAFLOC ® 351 a equação se apresentou sendo:

$$z = 100,1352 - 17,7770x - 6,0808y + 2,1423xy$$

B.2 FLOCULAÇÃO 2 – DUNALIELLA SALINA

B.2.1 ZETAG ® 8165

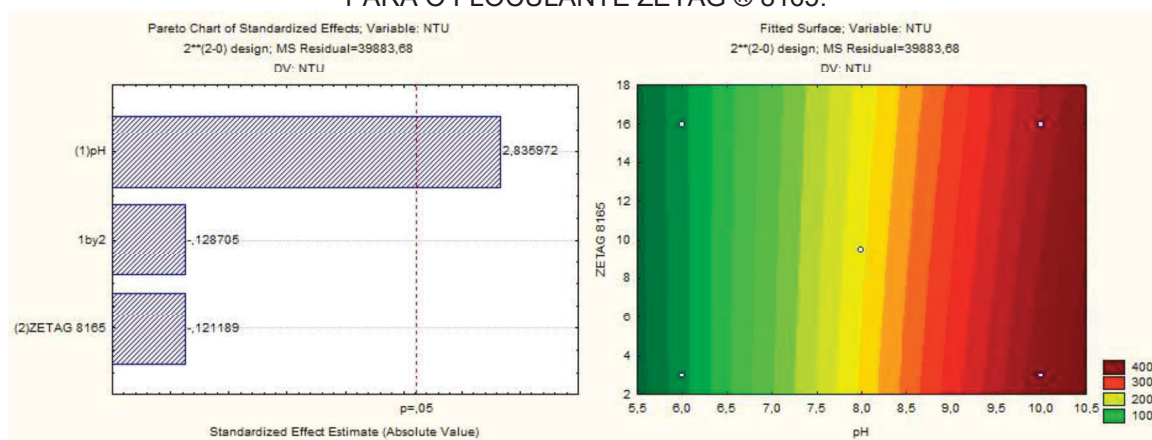
TABELA 37 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165 PARA *D. salina*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|---------------------------|--------|-----------|--------|----------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 216,62 | 43,58 | 4,97 | 1,17E-04 | 124,68 | 308,57 | 216,62 | 43,58 | 124,68 | 308,57 |
| pH ¹ | 326,99 | 115,30 | 2,84 | 1,14E-02 | 83,73 | 570,26 | 163,50 | 57,65 | 41,86 | 285,13 |
| Zetag ® ² 8165 | -13,97 | 115,30 | -0,12 | 9,05E-01 | -257,24 | 229,29 | -6,99 | 57,65 | -128,62 | 114,65 |
| 1 by 2 | -14,84 | 115,30 | -0,13 | 8,99E-01 | -258,11 | 228,43 | -7,42 | 57,65 | -129,05 | 114,21 |

FONTE: o autor, 2015

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 37). Isso pode ser observado (FIGURA 37) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita), que para qualquer pH abaixo da neutralidade da solução qualquer faixa de concentração do floculante irá apresentar redução significativa da turbidez. Quando se observa os valores de turbidez, verifica-se que são relativamente altos quando comparado com o valor inicial da cultura 21,3 NTU. Esses valores foram amplificados por uma possível precipitação dos sais presentes na cultura salina pela ajuda da adição do tampão, dentre estes componentes o fosfato de sódio dibásico. Em pH's altos, pode haver precipitação dos fosfatos, assim pode aumentar os valores de NTU como observado.

FIGURA 47 – DIAGRAMA DE PARETO (A DIREITA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A ESQUERDA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8165.



FONTE: o autor, 2015.

A equação abaixo, é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = -470,5305 + 87,1706x$$

B.2.2 ZETAG ® 8185

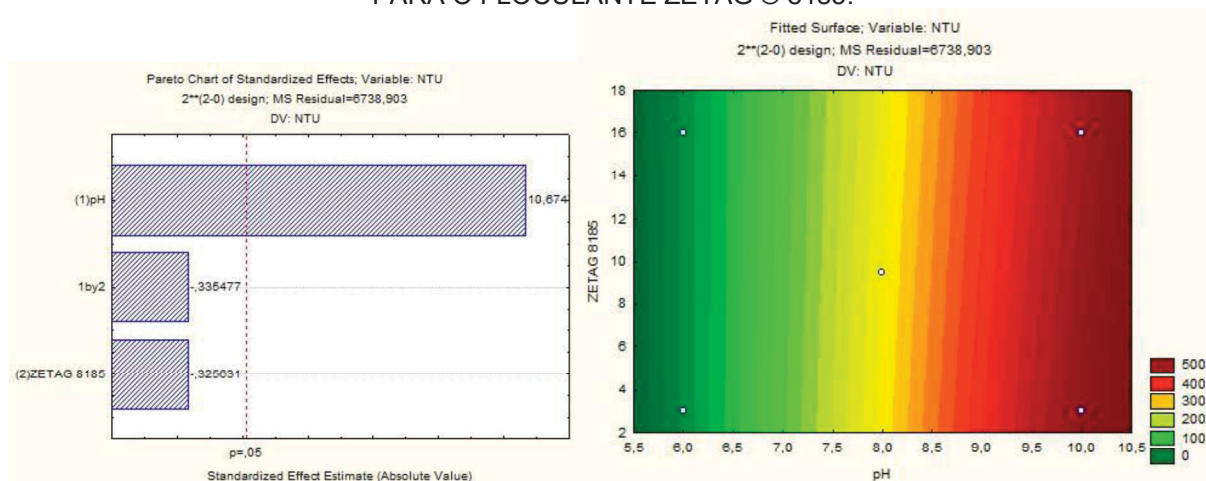
TABELA 38 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185 PARA *D. salina*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|---------------------------|--------|-----------|--------|----------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 257,90 | 17,91 | 14,40 | 5,93E-11 | 220,11 | 295,70 | 257,90 | 17,91 | 220,11 | 295,70 |
| pH ¹ | 505,93 | 47,40 | 10,67 | 5,90E-09 | 405,94 | 605,93 | 252,97 | 23,70 | 202,97 | 302,96 |
| Zetag ® ² 8185 | -15,43 | 47,40 | -0,33 | 7,49E-01 | -115,43 | 84,56 | -7,72 | 23,70 | -57,71 | 42,28 |
| 1 by 2 | -15,90 | 47,40 | -0,34 | 7,41E-01 | -115,90 | 84,10 | -7,95 | 23,70 | -57,95 | 42,05 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 38). Isso pode ser observado (FIGURA 48) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita), que para qualquer pH abaixo da neutralidade da solução qualquer faixa de concentração do floculante irá apresentar redução significativa da turbidez. Quando se observa os valores de turbidez, verifica-se que são relativamente altos quando comparado com o valor inicial da cultura 21,5 NTU.

FIGURA 48 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 8185.



FONTE: o autor, 2015.

A equação abaixo é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = -789,1606 + 132,2929x$$

B.2.3 ZETAG® 7652

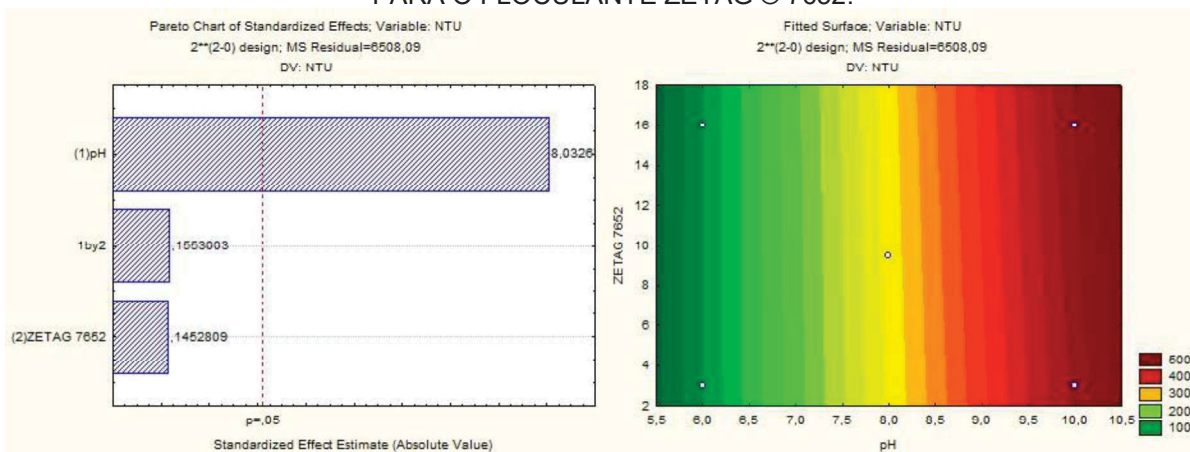
TABELA 39 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG® 7652 PARA *D. salina*.

| | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-----------------|--------|-----------|--------|----------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 266,53 | 17,60 | 15,14 | 2,67E-11 | 229,39 | 303,68 | 266,53 | 17,60 | 229,39 | 303,68 |
| pH ¹ | 374,13 | 46,58 | 8,03 | 3,45E-07 | 275,87 | 472,40 | 187,07 | 23,29 | 137,93 | 236,20 |
| Zetag® 7652 | 6,77 | 46,58 | 0,15 | 8,86E-01 | -91,50 | 105,03 | 3,38 | 23,29 | -45,75 | 52,52 |
| 1 by 2 | 7,23 | 46,58 | 0,16 | 8,78E-01 | -91,03 | 105,50 | 3,62 | 23,29 | -45,52 | 52,75 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 39). Isso pode ser observado (FIGURA 49) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (à esquerda). Já na superfície resposta (à direita), que para qualquer pH abaixo da neutralidade da solução qualquer faixa de concentração do floculante irá apresentar redução significativa da turbidez. Quando se observa os valores de turbidez, verifica-se que são relativamente altos quando comparado com o valor inicial da cultura 25,5 NTU.

FIGURA 49 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG® 7652.



FONTE: o autor, 2015.

A equação abaixo é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = -465,5346 + 90,8904x$$

B.2.4 ZETAG ® 4120

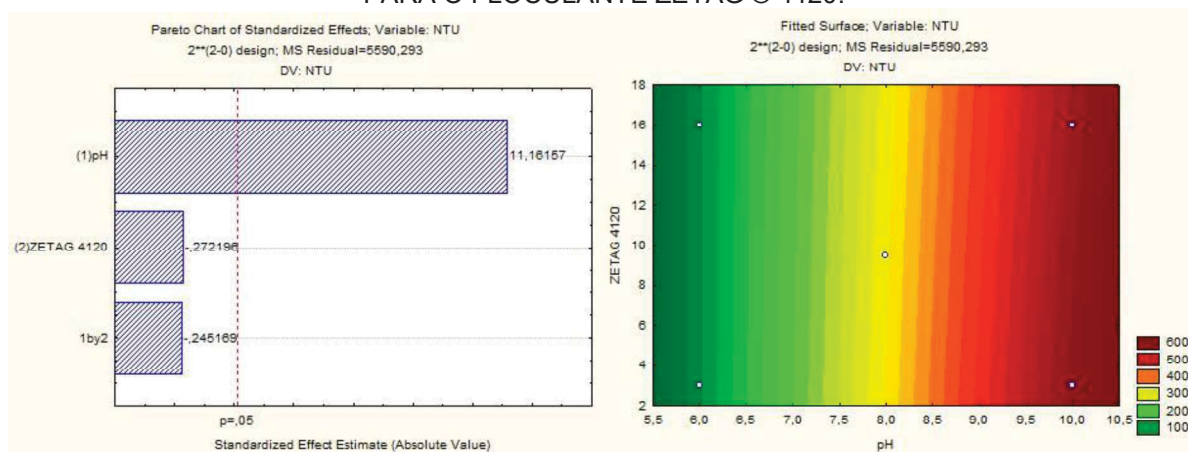
TABELA 40 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120 PARA *D. salina*.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-----------------|--------|-----------|--------|----------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 316,77 | 16,32 | 19,41 | 4,86E-13 | 282,34 | 351,19 | 316,77 | 16,32 | 282,34 | 351,19 |
| pH ¹ | 481,82 | 43,17 | 11,16 | 3,02E-09 | 390,74 | 572,89 | 240,91 | 21,58 | 195,37 | 286,45 |
| Zetag ® 4120 | -11,75 | 43,17 | -0,27 | 7,89E-01 | -102,83 | 79,33 | -5,87 | 21,58 | -51,41 | 39,66 |
| 1 by 2 | -10,58 | 43,17 | -0,25 | 8,09E-01 | -101,66 | 80,49 | -5,29 | 21,58 | -50,83 | 40,25 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 40). Isso pode ser observado (FIGURA 50) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (à esquerda). Já na superfície resposta (à direita), que para qualquer pH abaixo da neutralidade da solução qualquer faixa de concentração do floculante irá apresentar redução significativa da turbidez. Quando se observa os valores de turbidez, verifica-se que são relativamente altos quando comparado com o valor inicial da cultura 32,5 NTU.

FIGURA 50 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE ZETAG ® 4120.



FONTE: o autor, 2015.

A equação abaixo é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = -669,2160 + 124,3216x$$

B.2.5 MAGNAFLOC® LT 22

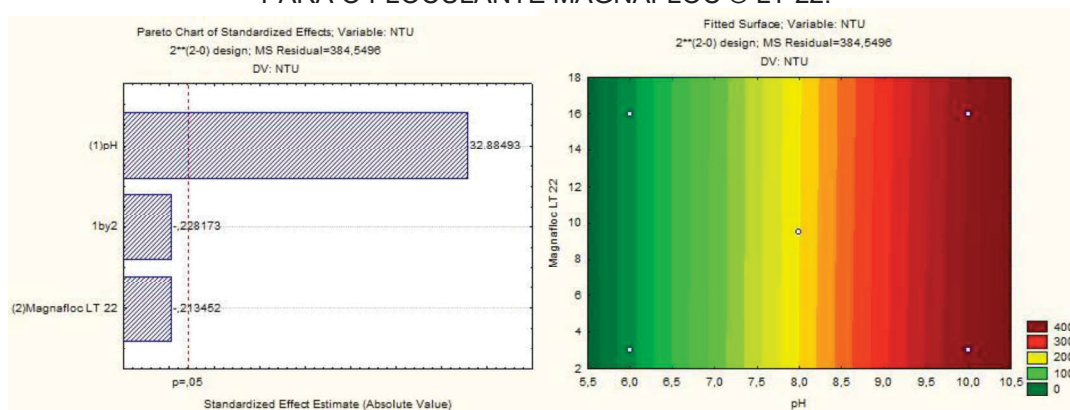
TABELA 41 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22 PARA D. salina.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95% Cnf.Limt | +95% Cnf.Limt |
|-------------------------------|--------|-----------|--------|----------|---------------|---------------|--------|-----------------|---------------|---------------|
| Mean/ Interc. | 199,39 | 4,28 | 46,59 | 2,24E-19 | 190,36 | 208,41 | 199,39 | 4,28 | 190,36 | 208,41 |
| pH ¹ | 372,32 | 11,32 | 32,88 | 7,86E-17 | 348,43 | 396,20 | 186,16 | 5,66 | 174,21 | 198,10 |
| Magnafloc® ² LT 22 | -2,42 | 11,32 | -0,21 | 8,34E-01 | -26,30 | 21,47 | -1,21 | 5,66 | -13,15 | 10,74 |
| 1 by 2 | -2,58 | 11,32 | -0,23 | 8,22E-01 | -26,47 | 21,30 | -1,29 | 5,66 | -13,24 | 10,65 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 41). Isso pode ser observado (FIGURA 51) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita), que para qualquer pH abaixo da neutralidade da solução qualquer faixa de concentração do floculante irá apresentar redução significativa da turbidez. Quando se observa os valores de turbidez, verifica-se que são relativamente altos quando comparado com o valor inicial da cultura 18,1 NTU.

FIGURA 51 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC® LT 22.



FONTE: o autor, 2015.

A equação abaixo é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = -551,0329 + 94,0231x$$

B.2.6 MAGNAFLOC ® 351

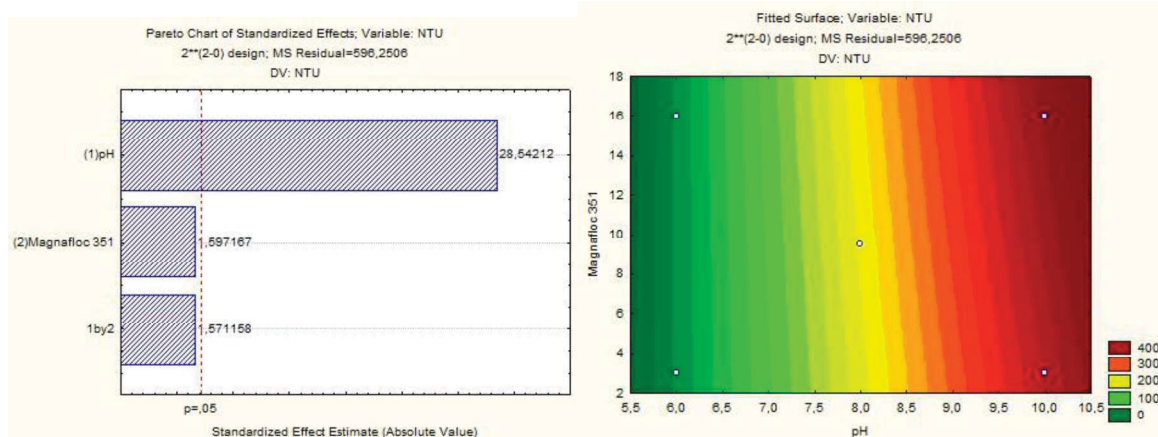
TABELA 42 - DADOS ESTATÍSTICOS PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351.

| ** | Effect | Std. Err. | t (17) | p | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt | Coeff. | Std.Err. Coeff. | -95, % Cnf.Limt | +95, % Cnf.Limt |
|-------------------|--------|-----------|--------|----------|-----------------|-----------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mean/ Interc. | 203,94 | 5,33 | 38,27 | 6,16E-18 | 192,70 | 215,18 | 203,94 | 5,33 | 192,70 | 215,18 |
| pH ¹ | 402,38 | 14,10 | 28,54 | 8,39E-16 | 372,64 | 432,13 | 201,19 | 7,05 | 186,32 | 216,06 |
| Magnafloc ® 2 351 | 22,52 | 14,10 | 1,60 | 1,29E-01 | -7,23 | 52,26 | 11,26 | 7,05 | -3,61 | 26,13 |
| 1 by 2 | 22,15 | 14,10 | 1,57 | 1,35E-01 | -7,59 | 51,89 | 11,08 | 7,05 | -3,80 | 25,95 |

FONTE: o autor, 2015.

Pode-se observar que apenas o pH apresentou significância ao nível de 5% (TABELA 42). Isso pode ser observado (FIGURA 52) mais facilmente quando analisamos o diagrama de Pareto (a esquerda). Já a superfície resposta (a direita), que para qualquer pH abaixo da neutralidade da solução qualquer faixa de concentração do floculante irá apresentar redução significativa da turbidez. Quando se observa os valores de turbidez, verifica-se que são relativamente altos quando comparado com o valor inicial da cultura 21,1 NTU.

FIGURA 52 – DIAGRAMA DE PARETO (A ESQUERDA) E A SUPERFÍCIE RESPOSTA (A DIREITA) PARA O FLOCULANTE MAGNAFLOC ® 351



FONTE: o autor, 2015.

A equação abaixo é adequada para que haja apenas os fatores significantes a curvatura se altera em termos lineares já que a equação é uma reta.

$$z = -552,5369 + 92,5026x$$